

María Azucena Gonzalo Rodríguez

Diagnóstico de la Esteatosis hepática a través de la medición de la bioimpedancia tisular. Estudio experimental.

Departamento
Cirugía, Ginecología y Obstetricia

Director/es
Castiella Muruzábal, Tomás
Güemez Sánchez, Antonio

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

DIAGNÓSTICO DE LA ESTEATOSIS HEPÁTICA A TRAVÉS DE LA MEDICIÓN DE LA BIOIMPEDANCIA TISULAR. ESTUDIO EXPERIMENTAL.

Autor

María Azucena Gonzalo Rodríguez

Director/es

Castiella Muruzábal, Tomás
Güemez Sánchez, Antonio

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Cirugía, Ginecología y Obstetricia

2012

TESIS DOCTORAL

M^a Azucena Gonzalo Rodríguez

**DIAGNÓSTICO DE LA ESTEATOSIS
HEPÁTICA A TRAVÉS DE LA
MEDICIÓN DE LA BIOIMPEDANCIA
TISULAR.
ESTUDIO EXPERIMENTAL.**

Para optar al título de Doctor en Medicina y Cirugía

Directores:

Dr. Antonio Güemes Sánchez

Dr. Tomás Castiella Muruzábal

Departamento de Cirugía, Ginecología y Obstetricia
Universidad de Zaragoza
Octubre de 2011

1.-ÍNDICE.....	2
2.-JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	5
3.-OBJETIVO DE NUESTRO TRABAJO.....	8
4.-INTRODUCCIÓN A LA ESTEATOSIS HEPÁTICA.....	10
4.1. CONCEPTO.....	11
4.1.1. Características macroscópicas.....	12
4.1.2. Características microscópicas.....	12
4.2.FACTORES DE RIESGO-MECANISMOS DE	
PRODUCCIÓN.....	15
4.3.MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DEL ACÚMULO DE GRASA EN EL	
HEPATOCITO.....	17
4.4.	
CUANTIFICACIÓN.....	22
4.5. IMPORTANCIA.....	23
4.6. EVOLUCIÓN DEL HÍGADO GRASO.....	27
4.7. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.....	29
Clínicos	
Laboratorio	
Radiológicos	
Biopsia hepática	
4.8.TRASPLANTE HEPÁTICO, DIAGNÓSTICO DEL INJERTO	
ÓPTIMO.....	36
4.9.FISOPATOLOGÍA DEL FALLO DEL INJERTO TRAS ISQUEMIA-	
REPERFUSIÓN DE UN HÍGADO ESTEATÓSICO	
.....	39
4.10. EVOLUCION DEL INJERTO DE HÍGADO CON	
ESTEATOSIS.....	41
4.12. MODELOS ANIMALES DE ESTEATOSIS.....	43

5.- BIOIMPEDANCIA.....	47
5.1. FÍSICA BÁSICA.....	48
5.1.1. Resistencia-impedancia.....	49
5.1.2. Permitividad.....	50
5.1.3. Conductividad	53
5.1.4. Conductividad de los tejidos.....	53
5.1.5. Modelos teóricos.....	56
5.1.6. Medición en diversos animales.....	61
5.2.MEDICIÓN DE LA BIOIMPEDANCIA.....	63
5.2.1. Métodos de medida. Leyes de Kirchhoff.....	63
5.2.2. Métodos directos.....	64
5.2.3. Métodos indirectos.....	64
5.3. ELECTRODOS.	65
5.3.1. ELECTRODOS BIPOLARES	65
5.3.2. ELECTRODOS TRIPOLARES	66
5.3.3. ELECTRODOS TETRAPOLARES.....	66
 6.- ENSAYOS PREVIOS.....	 73
6.1. DISEÑO DE ELECTRODOS.....	74
6.2. ENSAYOS EN ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN CON ELECTRODO TETRAPOLAR Y ADENDUM.....	87
6.3. RESUMEN DE ENSAYOS PREVIOS.....	96
 7.- HIPÓTESIS	 97
 8.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	 99
8.1.DISEÑO DEL ESTUDIO.....	100
8.1.1.SUJETOS DE ESTUDIO.....	100
8.1.2.MATERIAL.....	102
8.1.2.1. Electrodo.....	102
8.1.2.2. Sistema de medición.....	105
8.1.2.3. Quirófano.....	107
8.2. PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN.....	108

8.2.1. Manejo del animal durante el procedimiento.....	108
8.2.2. Aplicación del electrodo.....	109
8.2.3. Detector multifrecuencia	110
8.2.4. Recogida de datos eléctricos.....	111
8.2.5. Toma de biopsias y procesamiento.....	111
8.3. VARIABLES.....	112
8.4. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL.....	112
8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	113
9.- RESULTADOS.....	114
9.1. PESO DE LOS ANIMALES.....	115
9.2. ESTEATOSIS.....	124
9.2.1. BIOPSIA INTERMEDIA(tru-cut).....	124
9.2.2. BIOPSIA FINAL.....	132
9.3. RESULTADOS MEDICION DE IMPEDANCIA	144
9.3.1. MEDICIÓN CON ELECTRODO INSERTADO.....	145
9.3.2. MEDICIÓN CON ELECTRODO APOYADO.....	158
9.4. CORRELACIÓN.....	173
9.4.1. MEDICIONES REALIZADAS CON EL ELECTRODO INSERTADO.....	173
9.4.2. MEDICIONES REALIZADAS CON EL ELECTRODO APOYADO.....	178
10.- DISCUSIÓN.....	184
10.1. CONSIDERACIONES PREVIAS.....	185
10.2. PRINCIPALES APORTACIONES DE NUESTRO MODELO.....	189
10.3. LIMITACIONES DE NUESTRO MODELO EXPERIMENTAL.....	192
11.- CONCLUSIONES.....	197
12.- BIBLIOGRAFÍA.....	199

2.- JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

2.- JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

Definimos esteatosis como la acumulación de grasas (triglicéridos, ácidos grasos libres y colesterol) en el citoplasma de células parenquimatosas, en el caso de los hepatocitos la denominamos esteatosis hepática. Existen dos tipos de esteatosis (macro y microesteatosis), que pueden localizarse en diversas partes del lobulillo hepático, en dependencia del proceso causante.

La esteatosis hepática suele ser un proceso silente, siempre que la masa hepatocitaria sea suficiente para cumplir la función del hígado. Pero hay diversas circunstancias en las que puede suponer una pérdida de capacidad para cumplir la función hepática y adquirir relevancia clínica:

- 1- **Trasplante hepático**, proveniente del donante cadáver como en el vivo. Los hepatocitos esteatósicos no suelen resistir el estrés de la isquemia-reperfusión y no llegan a ser funcionantes.
- 2- **Cirugía resectiva hepática**. La exéresis de tumores asociados a un parénquima hepático anómalo (con esteatosis). Nos podemos encontrar, que el volumen de parénquima remanente calculado, no sea suficiente
- 3- La esteatosis hepática es condición *sine qua non* para el desarrollo completo de la enfermedad del hígado graso no alcohólico en forma de **esteatohepatitis**, esta enfermedad es capaz de evolucionar a cirrosis hepática y es una de las causas más frecuentes de disfunción hepática en los países desarrollados. La enfermedad de hígado graso no alcohólico se encuentra fuertemente asociado a la obesidad, DM tipo 2 y al síndrome metabólico.

El diagnóstico temprano de la esteatosis en estos procesos es fundamental para evitar las situaciones que lleven a la insuficiencia hepática y/o fracaso del injerto.

El diagnóstico preciso (*gold standard*) de la esteatosis hoy en día se realiza mediante una biopsia hepática y estudio microscópico de las muestras obtenidas. Los inconvenientes de este procedimiento son:

- La biopsia exige un procedimiento invasivo no exento de complicaciones
- Necesita la valoración de un patólogo experto
- La biopsia, al examinar una pequeña porción del parénquima puede no ser significativa del estado del resto del órgano.

La determinación de la **bioimpedancia (BI)** (resistencia que ofrecen los tejidos biológicos al paso de una corriente eléctrica) permite realizar un análisis de la composición y estructura de los tejidos, el tejido graso presenta una resistencia mucho mayor al paso de la corriente eléctrica que el resto de los tejidos del organismo. La medición en una parte de la víscera pudiera ser representativa del resto de la víscera y representar un método alternativo para la determinación del grado de esteatosis hepática.

Este método permitiría cuantificar la esteatosis hepática de forma más fiable, al analizar porciones de parénquima más extensas y sin necesidad de un análisis histológico.

Se han desarrollado diversos sistemas para medir la impedancia tisular, la mayor parte de ellos son electrodos tetrapolares que realizan la medición con una corriente de frecuencia determinada. La característica común de todos estos sistemas es que los electrodos diseñados realizan una medición de una porción de parénquima muy pequeña, apenas del volumen de tejido utilizado para la biopsia y la mayoría de los autores no se han puesto de acuerdo en la frecuencia de la corriente a la cual se realiza la medición.

3.- OBJETIVO DE NUESTRO TRABAJO

3.- OBJETIVO DE NUESTRO TRABAJO

Pretendemos realizar una cuantificación de la esteatosis hepática por medio de la medición de la BI a través de un electrodo implantable en el hígado, también pretendemos solucionar los problemas derivados del uso de los electrodos actuales para la medición de la BI y precisar cuáles son las características de la corriente más útiles para realizar la medición de la BI.

4.- INTRODUCCIÓN A LA ESTEATOSIS HEPÁTICA

4.- INTRODUCCIÓN A LA ESTEATOSIS HEPÁTICA

4.1. CONCEPTO

La esteatosis hepática o hígado graso es una enfermedad del hígado de origen multifactorial¹ caracterizada por la acumulación anormal de grasa en el hígado, ácidos grasos, colesterol y triglicéridos se acumulan en el citoplasma de los hepatocitos.

Distinguimos 2 grandes grupos etiológicos de esteatosis hepática:

-La esteatosis hepática de origen enólico. Es la esteatosis provocada por un exceso de la ingesta de alcohol.

-La esteatosis hepática no alcohólica, es una esteatosis de origen multifactorial en sujetos no afectados por otra enfermedad hepática y de los que se tiene certeza de la ausencia de ingestas alcohólicas.

Actualmente la prevalencia de la esteatosis hepática es de aproximadamente 20-30%, en la población occidental sana según algunos estudios epidemiológicos². Estas cifras pueden alcanzar hasta el 75 % en pacientes obesos.³

Esta revisión centra gran parte de su atención en la esteatosis hepática no alcohólica, entidad clínico-patológica en progresión tanto en su conocimiento como en su prevalencia.

La esteatosis es una de las enfermedades hepáticas más prevalentes en el mundo occidental, suele ser asintomática hasta que la mayor parte de las células hepáticas son afectadas (entorno al 50 %). El hallazgo de hígado graso es extremadamente frecuente en la población occidental aparentemente sana.

Esta afección, aparentemente benigna, puede tener implicaciones severas en determinadas circunstancias, como se ha descrito anteriormente, además se cree que puede favorecer la progresión de otras enfermedades hepáticas cuando coexiste con ellas.

4.1.1. Características macroscópicas del hígado esteatósico:

En el hígado, el cambio graso leve puede no afectar al aspecto externo. Con la acumulación progresiva, el órgano aumenta de tamaño y adquiere una tonalidad cada vez más amarilla, hasta que en casos extremos, alcanza entre 3 y 6 kg de peso y se transforma en un órgano de color amarillo brillante, blando y grasiento, de bordes redondeados.

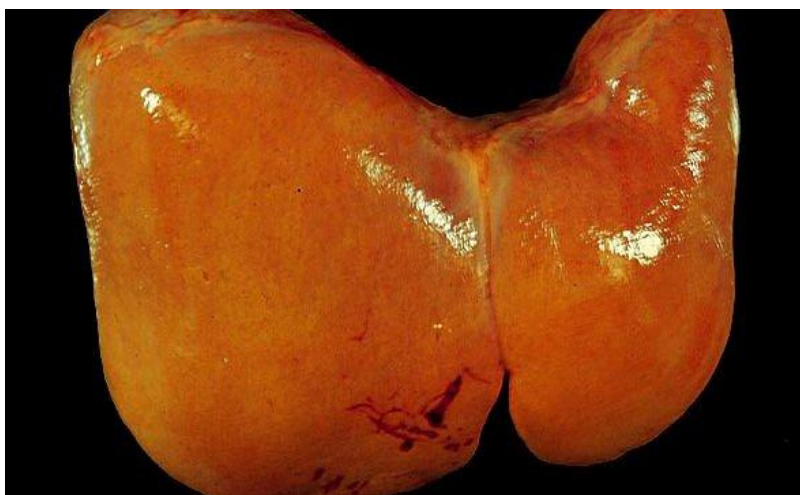


Fig. 1. Hígado esteatósico, amarillento de bordes redondeados.

4.1.2. Características microscópicas del hígado esteatósico:

El cambio graso comienza con la aparición de inclusiones diminutas rodeadas por membrana (liposomas) íntimamente relacionadas con el retículo endoplásmico. Al principio se observa con el microscopio óptico la aparición de pequeñas vacuolas grasas en el citoplasma que rodea al núcleo. A medida que avanza el proceso, las vacuolas coalescen, creando espacios claros que desplazan al núcleo hacia la periferia de la célula. En ocasiones, la rotura de las células contiguas y la coalescencia de los glóbulos grasos en ellas encerrados dan lugar a los denominados quistes grasos.

La esteatosis puede catalogarse según su tipo y su grado.

→Tipo de esteatosis:

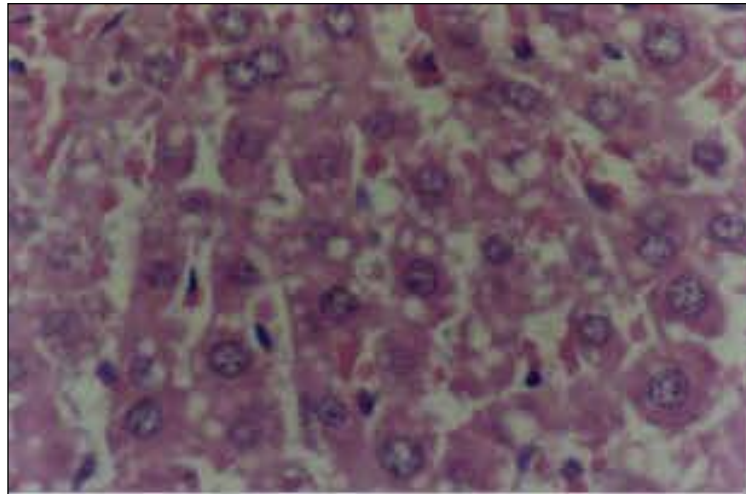


Fig.2. Corte de hígado donde se aprecian vacuolas de grasa más pequeñas que el núcleo celular. Esteatosis hepática microvesicular, tinción Hematoxilina-Eosina. 10 X.

ESTEATOSIS MICROVESICULAR. Cuando el citoplasma de los hepatocitos contiene muchas y pequeñas inclusiones grasas permaneciendo el núcleo en el centro de la célula. Las gotas de grasa son de menor tamaño que el núcleo de la célula en el 90% de los casos⁴. A veces son incluso indetectables para el microscopio óptico (no para el electrónico)⁵. Está típicamente asociado al fallo hepático en la embarazada y al síndrome de Reye. También se ha asociado a la administración de altas dosis de tetraciclina y de ácido valproico. A su vez se ha observado en situaciones de sepsis, hipoperfusión, colestasis, desnutrición y uso de nutrición parenteral total. La presencia de microesteatosis, en cambio, no contraindica el trasplante hepático.^{1,6}

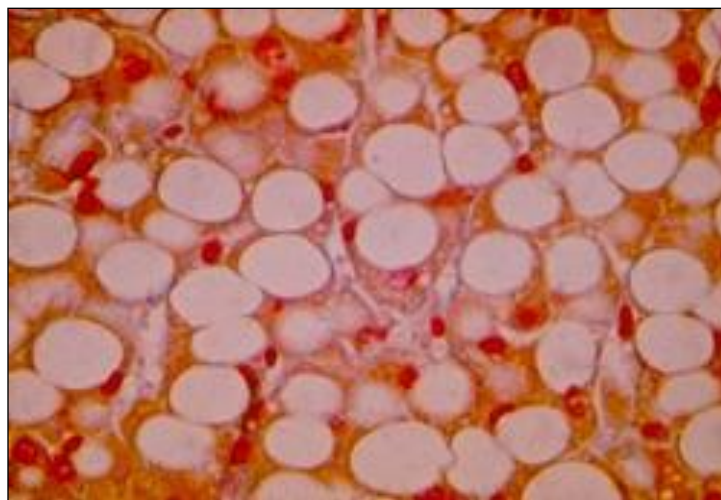


Fig.3. Corte de hígado donde se aprecian gotas de grasa que desplazan el núcleo a la periferia. Esteatosis hepática macrovesicular, tinción Rojo Sudán.10X

ESTEATOSIS MACROVESICULAR. Cuando los hepatocitos contienen una gran vacuola de grasa que desplaza el núcleo hacia la periferia de la célula. En ausencia de otros parámetros es una condición benigna, aunque en determinadas circunstancias (ej. trasplante hepático de hígado esteatósico) puede ocasionar severos problemas (disfunción primaria del injerto si supera el 60%). Entre sus posibles causas encontramos¹⁻⁴ el abuso de alcohol, diabetes mellitus, obesidad y algunas dislipidemias. La esteatosis macrovesicular está muy relacionada con el hígado graso no alcohólico.¹ Se han establecido una serie de parámetros para definir el hígado graso no alcohólico:

- Biopsia con presencia de moderada a severa esteatosis macrovesicular con inflamación con o sin cuerpos de hialina de Mallory, fibrosis o cirrosis.
- Consumo insignificante de alcohol.
- Ausencia de: anticuerpos contra VHC, infección por VHB, marcadores de autoinmunidad o enfermedad de Wilson.

→Grado de esteatosis:

Esta se clasifica mediante análisis anatomopatológico según el porcentaje de hepatocitos afectados por los glóbulos de grasa dentro de un lobulillo hepático en:

- Normal (<5 %),
- Leve (< 30 %),
- Moderada (30-59%) y
- Grave (>60%)

DISTRIBUCIÓN de las lesiones a lo largo de la viscera:

Hay muchos autores que describen la esteatosis como una enfermedad que se distribuye de forma homogénea a todo lo largo del hígado, así pues esta enfermedad ocuparía a toda la anatomía de la viscera.

Sin embargo existen diversos estudios, que demuestran que esta distribución no siempre es tan uniforme, sino que puede afectar de forma focal o nodular, estos se ha demostrado principalmente en estudios de imagen, que utilizan la RMN o el TAC, como el de Scott.⁷

Janiec, realizó el primer estudio que compara la infiltración grasa de lóbulo derecho e izquierdo en pacientes obesos, mediante biopsia. No encuentra diferencias en cuanto al grado, pero sí diferencias en el estadio de la enfermedad de hígado graso no alcohólica

que presentan estos pacientes.⁸ Posteriormente otros autores realizaron experimentos en la misma línea, con muestras más amplias, concluyendo que la distribución tanto de la esteatosis como de la esteatohepatitis podía ser heterogénea.⁹

La distribución de la esteatosis hepática en la ultraestructura del lobulillo hepático, varía según la etiología de la misma. En el hígado humano la *esteatosis hepática centrolobulillar* es causada por la diabetes, la obesidad y el alcoholismo. Sin embargo la *esteatosis hepática periportal* se ve fundamentalmente en la malnutrición y el embarazo. No ocurre lo mismo en otras especies animales donde la acumulación de grasa suele ser periportal (en modelos con déficits dietéticos) o centrolobulillar (en modelos con intoxicación alcohólica).

4.2. FACTORES DE RIESGO- MECANISMOS DE PRODUCCIÓN.

Los factores de riesgo asociados a la esteatosis hepática no alcohólica conocidos son¹:

- Dieta (tipo occidental), sedentarismo, obesidad y resistencia a insulina, entre los más destacados.

- Hiperlipidemia,

- Pérdida de peso (sobre todo si se producido en escaso tiempo), la desnutrición aguda, el kwashiorkor y la nutrición parenteral total.

- Ciertos fármacos: amiodarona, maleato de perhexilina, estrógenos, corticoides, tetraciclinas, tamoxifeno, nifedipino

- Sobrecrecimiento bacteriano.

- En su día, cuando se realizaban bypass yeyunoileales como técnica bariátrica ésta se asociaba a un sobrecrecimiento bacteriano y a una degeneración grasa hepática en pacientes obesos.¹⁰

- Posteriormente otros estudios han encontrado reversión completa de esteatosis después de un by pass gastroyeyunal en Y de Roux tratados con metronidazol.

- Modelos experimentales en ratas el peptidoglicano-polisacárido tiene un papel importante en la aparición de lesiones hepáticas.

- Diverticulosis yeyunal con sobrecrecimiento bacteriano.

También existen diversos determinantes genéticos, ya que en pacientes con similares factores de riesgo la esteatosis puede evolucionar o no a esteatohepatitis de forma diversa. Esto se debe a polimorfismos genéticos de los pacientes. Se han estudiado genes que afectan a la resistencia insulínica, al metabolismo de ácidos grasos, al stress oxidativo, a la regulación inmunitaria y al desarrollo de fibrosis.¹¹

Apenas existen estudios a nivel molecular, la mayor parte del conocimiento procede de los modelos animales.

Se conoce con cierta precisión que la esteatosis hepática evoluciona en 2 fases:

-ESTEATOSIS HEPÁTICA PROPIAMENTE DICHA: es el primer paso, asociado íntimamente a la resistencia insulínica y a otros factores, como mutaciones en ciertos genes, fármacos... que producen alteración en el metabolismo graso, produciendo una acumulación de la grasa en el hepatocito.

-CAMBIOS NECROINFLAMATORIOS-FIBROSIS: la acumulación de grasa genera stress oxidativo lleva a peroxidación lipídica de las membranas celulares y estimulación del TNF- α , produce radicales libres y alteración de la cadena mitocondrial: ocasionando finalmente inflamación, necrosis y fibrosis.

4.3. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DEL ACÚMULO DE GRASA EN EL HEPATOCITO ^{1,12}.

El acúmulo de grasa en los hepatocitos suele ser el final de multitud de procesos metabólicos alterados a nivel bioquímico, muchos de ellos no bien conocidos, que ocupan a múltiples mediadores (del orden de cientos), con vías metabólicas comunes y acelerados por variados estímulos. La progresión de la esteatosis a esteatohepatitis no alcohólica tampoco es bien conocida.

Se han descrito diversos mecanismos causantes de la generación y posterior progresión de la NAFLD. Aunque todavía hay pasos (reacciones bioquímicas) de la fisiopatología sin dilucidar.

Para una mejor comprensión de estos mecanismos distinguimos 2 tipos de NAFLD:

- PRIMARIA: asociada con síndrome metabólico y obesidad.

- SECUNDARIA: asociada con otros factores (NPT –nutrición parenteral total-, amiodarona, by pass yeyunal...).

La teoría del doble impacto es la más prevalente en los diferentes trabajos. Un primer impacto provoca la acumulación de grasa en el hígado, lo que hace que el hepatocito sea más sensible a un segundo impacto y desarrolle una respuesta inflamatoria conducente a esteatohepatitis. La resistencia periférica a la insulina se considera la base de la esteatosis hepática asociada a obesidad.

NAFLD PRIMARIA.

La mayoría de los estudios tienen como base la explicación realizada por Day¹³ en 1998, modelo basado en 2 etapas o ‘hits’ patogénicos de la enfermedad.

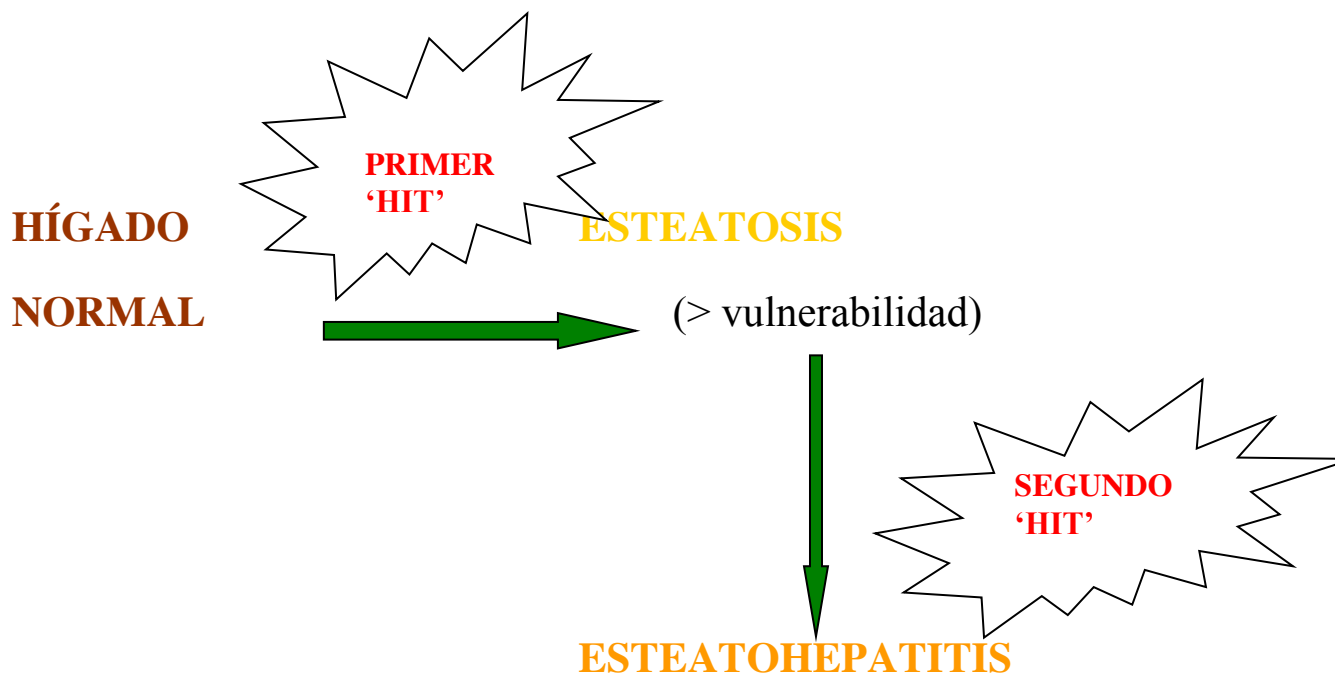


Fig. 4 Teoría de “two hits” de Day para el desarrollo de esteatosis (como estado de mayor vulnerabilidad) y su progresión a esteatohepatitis.

PRIMER HIT: ACUMULACIÓN DE GRASA EN EL HÍGADO.

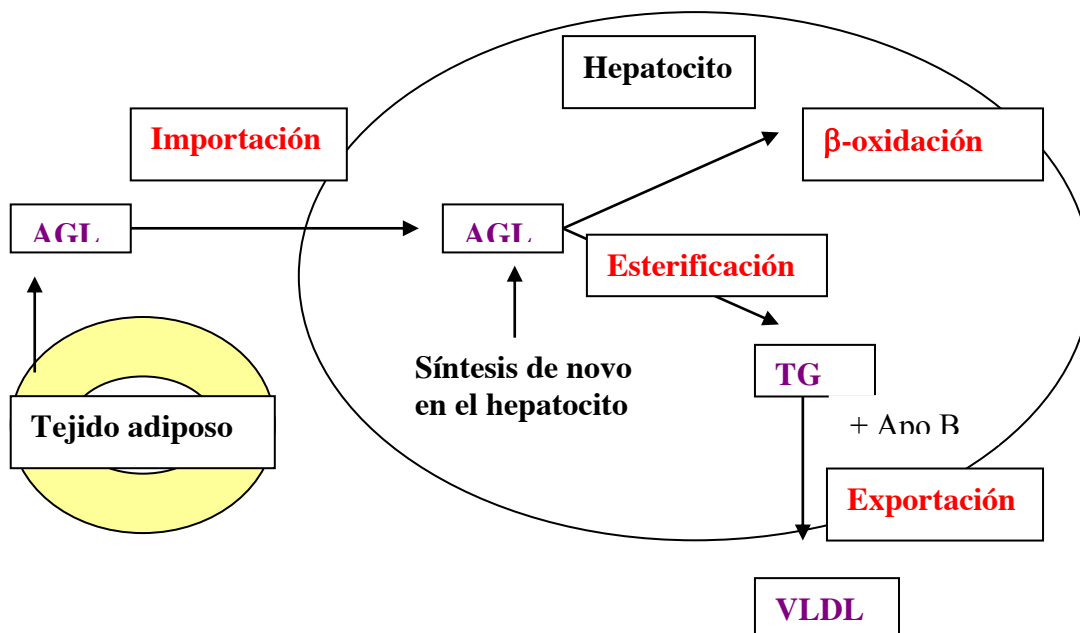


Fig. 5 Metabolismo lipídico en el hepatocito. Su contenido viene determinado por el equilibrio entre la importación, la síntesis, la β-oxidación, esterificación de ácidos grasos libres (AGL) y la exportación en forma de triglicéridos (TG) dentro de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

Si la captación y síntesis de lípidos es mayor que la β-oxidación y exportación de los mismos, nos encontramos ante una situación de desequilibrio.

La resistencia insulínica parece ser la base de este primer paso en la NAFLD primaria.

Esta primariamente sucede en los tejidos periféricos (músculo y tejido adiposo) y de forma compensadora aparece una hiperinsulinemia.

Esta situación de resistencia insulínica/hiperinsulinemia tiene como resultado:

- Aumento de la lipólisis periférica.
- Incremento de la captación de ácidos grasos libres (AGL) por parte del hígado
- Aumento de la síntesis de triglicéridos.

En estas circunstancias se satura la β -oxidación de AGL y la exportación de triglicéridos, teniendo como resultado final la acumulación de grasa en el hígado.

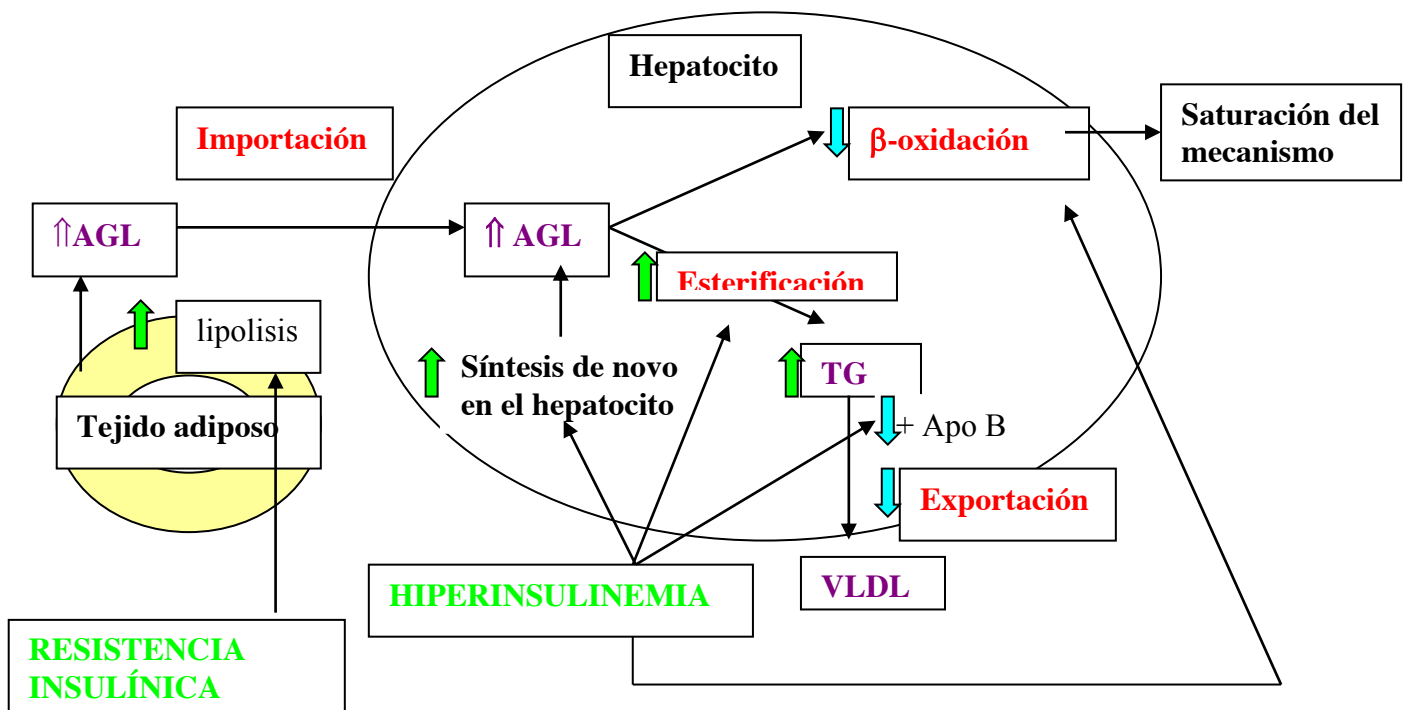


Fig. 6 Efectos de la resistencia insulínica en el metabolismo lipídico. Aumenta la lipólisis en el tejido adiposo, con aumento de los niveles circulantes, que son captados por el hepatocito. Éste ve además incrementada su síntesis de novo. Teniendo materia prima (los AGL) en excedente no los podemos β -oxidar a ritmo normal y además se ve aumentada la producción de TG. Esta ingente cantidad de triglicéridos además sufre la deficiencia de Apo B, con lo cual son exportados en menor cuantía.

Tras un primer impacto el hepatocito esteatósico es más sensible al desarrollo de esteatohepatitis. Aunque no debemos olvidar que la esteatosis es una situación reversible, mientras que la esteatohepatitis no lo es.

SEGUNDO HIT: HACIA LA INFLAMACIÓN Y LA FIBROSIS HEPÁTICA.¹⁴

La segunda etapa hacia la NAFLD o esteatohepatitis, tiene como mecanismo patogénico principal el **stress oxidativo**, integrado por la disfunción mitocondrial, el aumento de radicales libres de oxígeno mitocondriales y la lipoperoxidación.

El stress oxidativo activa:

- Fas ligando que causa degeneración hepática y muerte celular.
- Factor nuclear kappa β (NF-Kappa β) estimula la síntesis de citocinas proinflamatorias (TNF- α , TGF- β , IL-8).

Además, los productos finales de la peroxidación: malonaldehído y 4-hidroxinonenal tienen propiedades quemoatácticas, activando citocinas proinflamatorias (TNF- α , TGF- β , IL-6, IL 8) y estimulando la producción de colágeno por las células estrelladas.

La acción de estas citocinas, a nivel local, es capaz de estimular la respuesta inflamatoria.

Los factores que acaban llevando a la fibrosis son:

- Citocinas proinflamatorias
- Hormonas derivadas del tejido adiposo (adipocitocinas)

Citocinas proinflamatorias:

-*Crespo¹⁵ et al.* Describen que los pacientes obesos con NASH tienen un aumento de la expresión en el hígado del TNF- α y de su receptor.

Adipocitocinas:

- El aumento de TNF- α , junto con los radicales libres de oxígeno parecen ser responsables de la disminución de *adiponectina*, detectada en los pacientes con NASH. Esta molécula es protectora frente a la inflamación.
- La *leptina* también parece tener un papel en la fibrogénesis.

Finalmente las lesiones acaecidas en el hepatocito, junto con la inflamación activan las células estrelladas hepáticas (células de Ito), que sintetizan matriz extracelular, ocasionando finalmente fibrosis hepática.

→ Hay algunos estudios que también implican a la resistencia insulínica como segundo hit. Mediante aumento de la oxidación de ácidos grasos en la mitocondria y en peroxisoma α (sobre todo en pacientes con anomalías mitocondriales) generando radicales libres de oxígeno. Éstos, mediante la peroxidación lipídica, inducción de citocinas y de Fas ligando, favorecen la progresión de esteatosis a esteatohepatitis y fibrosis.

Finalmente hay que destacar que no todos los pacientes con los mismos factores de riesgo (obesidad, diabetes, hiperlipidemia, etc...) desarrollan esteatosis.

Además, al igual que ocurre con la esteatosis alcohólica, no todos los pacientes con simple esteatosis desarrollan las lesiones características de la esteatohepatitis. Tampoco todos los pacientes con esteatohepatitis alcanzan un estadio de cirrosis, y aquellos que lo hacen, habitualmente ocurre en diferentes lapsos de tiempo.

Se ha sugerido que esta variabilidad de resultados puede estar basada en factores genéticos, tales como polimorfismos en CYP2E1, TNF- α o IL-10. Duvnjak¹¹ hace una exposición aclaratoria de todos los polimorfismos conocidos hasta ahora, tanto a partir de animal de experimentación como de estudios en humanos.

4.4. CUANTIFICACIÓN

DE LA ESTEATOSIS

La biopsia hepática es el único método que permite un diagnóstico de certeza cuantitativo de la esteatosis hepática, pero hay un fuerte factor observador dependiente. Actualmente se aceptan tres métodos para diagnosticar anatomopatológicamente la esteatosis hepática¹⁶:

-Mediante grado de esteatosis

0: no I: <33% II: 33-66% III: >66%

El patólogo estima semicuantitativamente el área de la biopsia que está afectado por vacuolas de grasa.¹⁷

-Mediante porcentaje, intentando ajustar algo más que en el caso anterior.

-Mediante análisis asistido por ordenador, mediante programas informáticos y lectores ópticos automáticos que calcula el % medio de varios campos.

DE LA ESTEATOHEPATITIS

Existe un sistema de estadiaje de la actividad necroinflamatoria, clásico en todo los tratados, es el de Brunt¹⁸, que clasifica a la actividad inflamatoria en tres grados:

-Grado 1: esteatosis <66%, balonización de los hepatocitos en la zona 3 del acino de forma ocasional, polimorfonucleados aislados intra-acino asociando o no linfocitos, nula o ligera inflamación portal crónica.

-Grado 2: esteatosis de cualquier grado, evidente balonización de los hepatocitos sobre todo en la zona 3, polimorfonucleares intra-acino, puede estar asociada con fibrosis pericelular en zona 3, evidente inflamación crónica portal e intra-acino.

-Grado 3: esteatosis panacinar, balonización, desorden evidente predominante en zona 3, inflamación en el acino (polimorfonucleares con hepatocitos balonizados).

A su vez existe una estadificación de la fibrosis en 4 estadios¹⁸:

-Estadio 1: fibrosis perisinusoidal

-Estadio 2: estadio 1 y fibrosis portal

-Estadio 3: estadio 2 y puentes de fibrosis

-Estadio 4: cirrosis.

4.5. IMPORTANCIA

Las primeras descripciones de esteatohepatitis no alcohólica fueron por Ludwig en 1980¹⁹, íntimamente ligadas al avance del conocimiento de la patología de esta víscera y a los avances en el trasplante hepático. Con el transcurrir de los años se ha individualizado como entidad clínico-patológica independiente de otros tipos de patología hepática. Las publicaciones sobre este tema crecen de forma exponencial, tanto en revistas clínicas, como de investigación básica, tanto que hoy en día existen congresos y reuniones monográficas a nivel mundial sobre este tema.

La publicación de Brunt¹⁸ en 1999 supone un hito en la historia de la esteatosis hepática porque propone un sistema de estadificación propio e independiente de la esteatosis hepática y de la esteatohepatitis que ayuda a la homogeneización de los resultados ofrecidos en los diferentes estudios.

Como se ha dicho con anterioridad, la esteatosis puede ser un proceso silente que nunca va a ocasionar un problema al paciente, pero en determinadas circunstancias puede revelarse como un hándicap difícilmente soslayable para el paciente, estos casos son fundamentalmente:

→La presencia de esteatosis en el hígado del donante vivo y cadáver.

El grado de esteatosis hepática es un predictor de mala evolución del trasplante hepático igual que la presencia de virus C en el Receptor, el tiempo de isquemia, presencia de CMV.

Los factores dependientes del donante cadáver que influyen en la disfunción primaria del injerto son: hospitalización mayor a 3 días, edad superior a 49 años, más de 18 horas de preservación y la esteatosis hepática.²⁰

La razón es que el hígado graso se caracteriza por un descenso de la tolerancia a la isquemia (caliente y fría)/reperfusión, que lleva en un porcentaje de casos al fracaso del injerto. Pudiendo a su vez, afectar al postoperatorio de los donantes vivos.²¹ En esencia, las células esteatósicas no se comportan igual que los hepatocitos normales ante la agresión que supone la isquemia, tanto fría como caliente²², y los fenómenos que ocurren tras la reperfusión (insuficiente recuperación del metabolismo celular,

alteración de la estructura microvascular sinusoidal) producen necrosis de las mismas con la consiguiente disfunción primaria del injerto.

Se admite como esteatosis aceptable en el trasplante hepático, hasta un 25-30% de las células esteatóticas en la biopsia, por encima de estas cifras el órgano es habitualmente rechazado para trasplante, salvo circunstancias excepcionales.²³

Estos fenómenos afectan anualmente a más de 20.000 pacientes sometidos a trasplante hepático ortotópico en el mundo.

Según el registro del Observatorio Global de Trasplante (agencia auspiciada por la Organización Nacional de Trasplantes y la World Health Organization) en el mundo se realizan más de 17.000 trasplantes anuales procedentes de donante cadáver -17.246 en 2008-, en EEUU se realizaron 1/3 de los casos: 6.069 y en España 1080, lo que supone un 6,3 % mundial.

No es desdeñable la cifra trasplante hepático de donante vivo, teniendo en cuenta que se realizan anualmente más de 2.000 trasplantes hepáticos de donante vivo –exactamente 2.291 reportados en 2008-; China, Turquía y Japón agrupan más de la mitad de los casos y de ese total 28 se realizaron en España.

Estos datos recogidos son de aquellos casos en los que se ha realizado por completo el trasplante, pero hemos de tener en cuenta que se evalúan muchos potenciales donantes (tanto procedentes de cadáver como de donantes vivos) antes de poder obtener un hígado válido.

Precisando estos datos²⁴, durante el año 2010 se desecharon en España 355 hígados para el trasplante lo que supone el 27,5% de los hígados generados. Observando los cinco años previos se puede considerar que el porcentaje de hígados desechados se ha ido incrementando de forma significativa en los últimos dos años (Fig. 7).

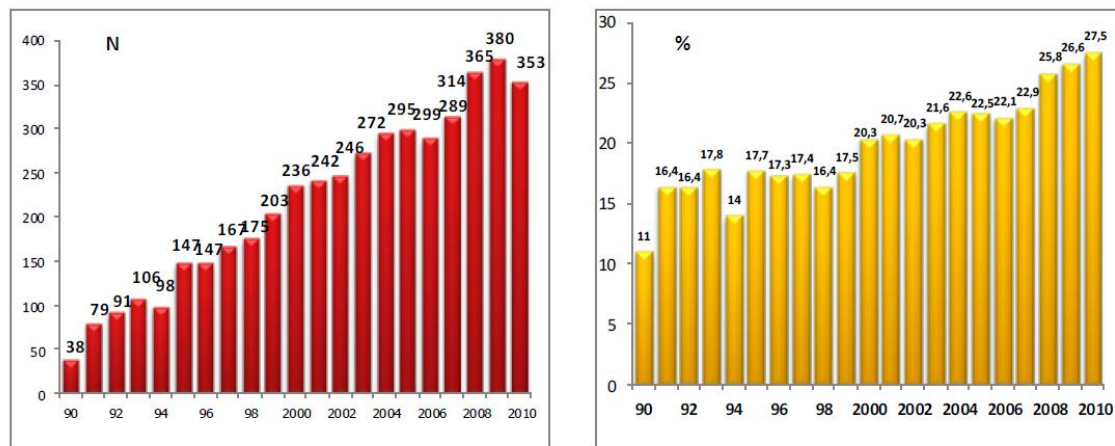


Fig. 7. Hígados no válidos (nº absoluto y porcentaje)

La principal causa de no implante fue el hígado patológico (91%) siendo las causas más frecuentes la esteatosis y el aspecto macroscópico. Otra causa para desechar el órgano fue la patología sistémica (tumoral o infecciosa) en el 6% de los casos (Fig. 8 y 9).

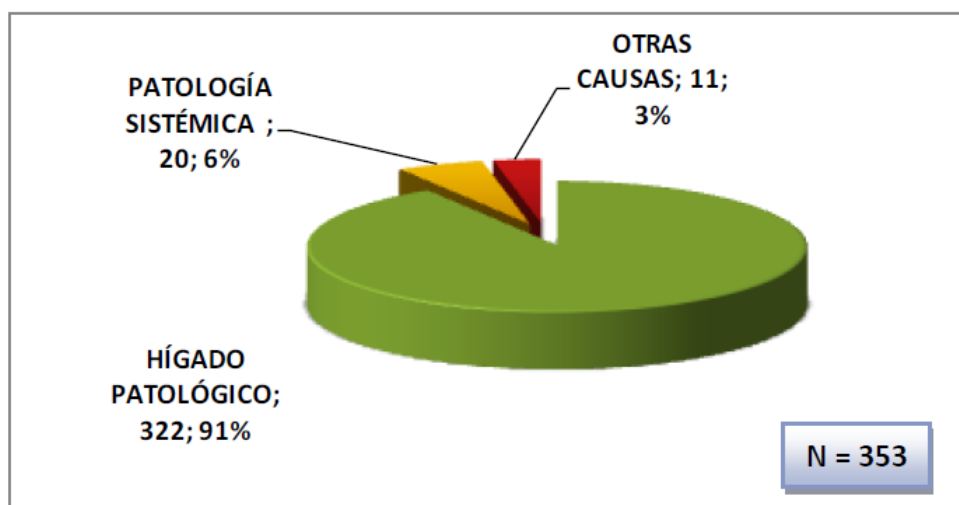


Fig. 8. Causas de no implante

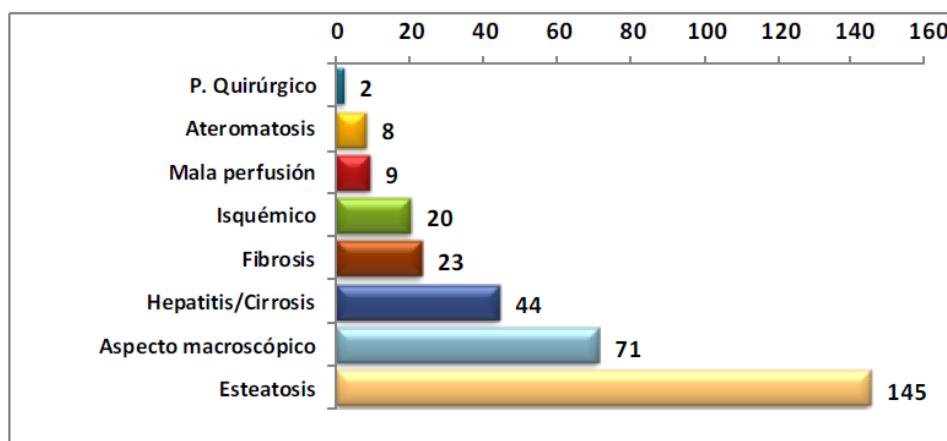


Fig. 9. Causas de hígado patológico 2010.

El análisis uni-variante permite identificar que la no validez de los hígados extraídos se asocia de forma estadísticamente significativa con las siguientes variables: edad del donante, ACV como causa de muerte, ecografía hepática patológica, historia de alcoholismo, Hipertensión y Diabetes Mellitus y niveles elevados de GGT.

Las variables que, tras la realización del análisis multi-variante, han demostrado tener un impacto real sobre la viabilidad de los hígados extraídos son únicamente edad del donante, la ecografía hepática patológica y el alcoholismo.

→Una situación similar a la que ocurre en el trasplante hepático se produce en las **resecciones hepáticas**, si se añade maniobra de Pringle prolongada, produciendo una isquemia caliente que es muy tóxica sobre los hepatocitos esteatósicos²².

El desarrollo actual de la cirugía hepática, ha llevado al desarrollo de las técnicas actualmente conocidas como “cirugía hepática extrema”²⁵, que incluyen aquellas que precisan una isquemia prolongada de más de 90 minutos y la exéresis de tumores asociados a un parénquima hepático anómalo. En estas circunstancias hemos de tener en cuenta la calidad del parénquima hepático remanente.

Algunos estudios exponen que la esteatosis hepática por encima del 30%²⁶ influye en la duración de la cirugía, aumenta las probabilidades de transfusión y se relaciona con un mayor riesgo de fallo hepático precoz y con una mayor mortalidad.²⁷

Otro dato a tener en cuenta es que en la cirugía hepática mayor hay ciertos factores que se han establecido como potenciales estimulantes del crecimiento de aquellas

micrometástasis que permanecen en el parénquima remanente. Entre estos factores están el tiempo de isquemia/reperfusión, la edad y la esteatosis hepática.²⁸

→ Por otra parte debemos destacar que esta entidad clinicopatológica constituye probablemente la **tercera causa de enfermedad hepática**, tras la hepatopatía alcohólica y el virus de la hepatitis C y, por su estrecha asociación con la obesidad y la alta prevalencia de ésta, hay autores que consideran a la NAFLD como la causa más frecuente de hepatopatía en la sociedad americana. Y probablemente pueda estar debajo de la mayor parte de los casos de la cirrosis criptogenética.

La prevalencia de la NAFLD alcanza el 35% en la población general en algunos estudios, sin embargo en la población obesa estas cifras pueden ascender hasta el 75%.²⁹

4.6. EVOLUCIÓN DEL HÍGADO GRASO

En la actualidad se acepta que la esteatosis hepática constituye la lesión precursora necesaria para la constitución de la fase de esteatohepatitis no alcohólica (inflamación y fibrosis), también conocida como NASH (non alcoholic steatohepatitis).

Hay ciertos factores que favorecen esta progresión³⁰:

- Edad < 45 años
- GOT / GPT > 1
- GGT/GPT > 1
- GPT > 2 Veces normal
- IMC > 28 kg/ m²
- GPT > 2 Veces normal
- DM tipo II
- Hipertrigliceridemia
- Enfermedades asociadas a EHNA (enfermedad hepática no alcohólica)

NAFLD (non alcoholic fatty liver disease) como ya hemos dicho engloba una serie importante de cambios, desde simple *esteatosis* del 5% hasta daño hepatocelular, que deviene en esteatohepatitis no alcohólica (NASH) con inflamación y fibrosis, que puede

progresar a cirrosis, y ésta a su vez complicarse con hepatocarcinoma o disfunción hepática.

Aproximadamente el 5 % de los pacientes con NAFLD desarrolla cirrosis, y de éstos en una media de 7 años el 1,7 % habrá muerto de las complicaciones de la cirrosis.³¹

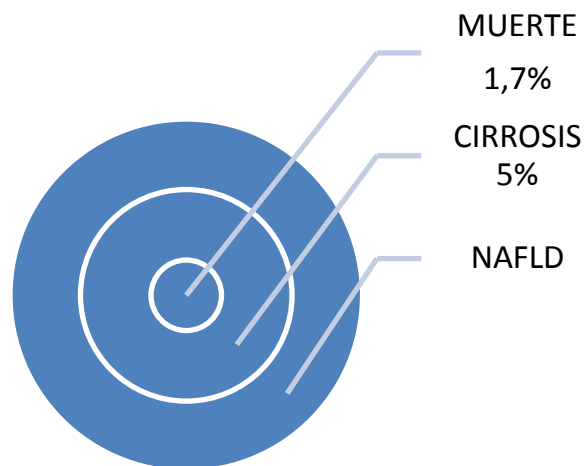


Fig.10. Progresión de NAFLD, a cirrosis e incluso muerte en 7 años.

A lo largo de estos últimos años tenemos 3 estrategias para hacer frente a la progresión de la NAFLD.

1→Identificación y tratamiento de los factores de riesgo metabólico.

2→Mejorar la resistencia insulínica mediante pérdida de peso, ejercicio o farmacoterapia.

-La pérdida de peso debe ser progresiva, y no demasiado rápida, ya que esto se puede asociar a empeoramiento de la esteatohepatitis.

-En este paso debemos considerar la cirugía bariátrica. Se ha comprobado por biopsia que la esteatohepatitis puede regresar a esteatosis y que ésta puede desaparecer tras cirugía de la obesidad mórbida cuando los pacientes pierden peso, sin embargo la cirrosis no regresa cuando está establecida.

Pero a veces es la cirugía bariátrica la causante de la esteatosis, por diversas causas, entre ellas el sobrecrecimiento bacteriano, situación que en muchos casos obliga a desmontar y / o tratar con metronidazol.

-Agentes antidiabéticos: metformina, rosiglitazona, pioglitazona

3→ Uso de sustancias hepatoprotectoras tales como pentoxifilina, Vitamina E...

4.7. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Actualmente el *gold standard* para determinar la esteatosis hepática es la biopsia hepática. Ningún método hasta la actualidad ha conseguido unos índices de fiabilidad y especificidad semejantes, sin embargo es una prueba cruenta y tiene múltiples inconvenientes debidos a la naturaleza invasiva de la misma (dolor, hematoma, hemoperitoneo, bilioperitoneo), sin olvidar que la biopsia hepática puede darnos lugar a error dado que analizamos una porción muy pequeña del parénquima hepático (1/50000).

En los últimos años se han realizado esfuerzos importantes para diagnosticar la esteatosis hepática por métodos precisos y poco agresivos, con diferentes tasas de éxito. No hay ningún estudio analítico que nos pueda asegurar la presencia de esteatosis hepática. Las pruebas de imagen (ecografía, Tomografía Axial Computarizada, Resonancia Magnética Nuclear...) se aproximan a la presencia-ausencia de esteatosis, pero no son lo suficientemente precisas para cuantificar la esteatosis hepática.

4.7.1. Métodos Clínicos

→ La mayoría de las ocasiones se presenta de forma asintomática:

- Mediante un hallazgo casual ecográfico
- Mediante una hipertransaminasemia ($ALT > AST$) en ausencia de otra causa.
- Hallazgo operatorio o de una biopsia operatoria.

Siempre hemos de sospechar esta patología en pacientes con alto índice de masa corporal (BMI), dado que generalmente se asocia con riesgo más alto de esteatosis. Sin embargo, un índice de masa corporal normal no implica la ausencia de esteatosis. El índice de masa corporal total no lo podemos correlacionar cuantitativamente con el porcentaje de esteatosis.³²

→ Son escasos los pacientes que presentan sintomatología en ausencia de NAFLD avanzada, además ésta suele ser bastante inespecífica: astenia, molestias en hipocondrio derecho. A la exploración podemos descubrir hepatomegalia blanda.

→ Puede presentarse como cirrosis hepática (descartadas otras causas)

→ También puede debutar con complicaciones de cirrosis

4.7.2. Hallazgos de Laboratorio

Si bien es verdad que en muchas ocasiones la esteatosis puede pasar desapercibida en una analítica. Hay ciertos parámetros bioquímicos que nos pueden orientar hacia su diagnóstico e incluso ayudar a diferenciar la esteatosis hepática alcohólica de la no alcohólica.

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS	ESTEATOSIS ENÓLICA	ESTEATOSIS NO ASOCIADA A ALCOHOL
AST / ALT GOT / GPT	Mayoría > 1	Esteatosis ligera < 1 Esteatosis severa > 1
Bilirrubina	↑ O ↑↑	Normal
Albúmina	Normal o ↓	Normal
ANAS,		Ocasionalmente títulos bajos
Saturación de transferrina		↑
Ferritina sérica		↑

Tabla 1. Diferencias analíticas entre esteatosis alcohólica y no alcohólica

4.7.3. Métodos Radiológicos

Diversas pruebas radiológicas se han utilizado para el diagnóstico de esteatosis, aunque no presentan un alto índice de efectividad, son pruebas complementarias que se realizan de forma sistemática en futuros donantes de órganos

También son solicitadas en el proceso de evaluación de un paciente con alteraciones enzimáticas y biotipo de riesgo y pueden poner de manifiesto esta patología de forma casual, en el transcurso de un estudio radiológico por otra causa. Estas pruebas son las siguientes:

4.7.3.1. Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Esta prueba complementaria puede evaluar³³:

Grado y tipo de esteatosis:

→ Grado de esteatosis:

La clasificación *según RMN*:

- Esteatosis leve: intensidad de señal del hígado mayor que la del músculo paravertebral y más baja que la del bazo.
- Esteatosis media: intensidad de señal del hígado mayor o igual que la del músculo paravertebral y bazo.
- Esteatosis moderada-grave: intensidad de señal del hígado más baja que la del músculo paravertebral y del bazo.

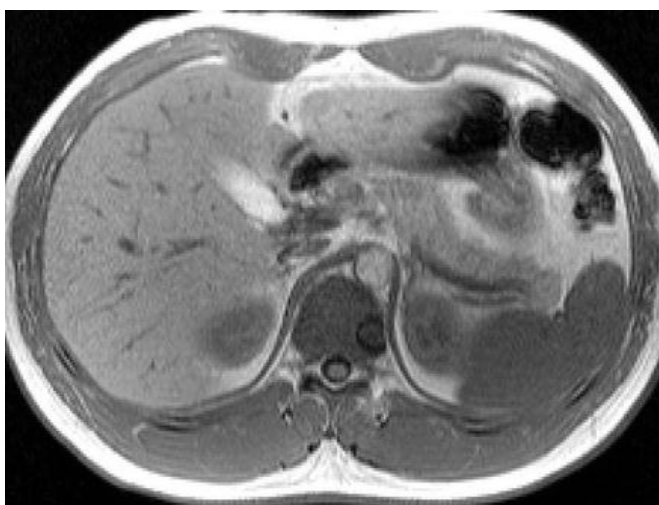


Fig. 11 Esteatosis severa (intensidad de señal del hígado más baja que músculo paravertebral y bazo). Imagen de RMN.

Recordamos que de moderada a severa ($\geq 30\%$) aumenta el riesgo de complicaciones postoperatorias.

El tipo de esteatosis no es posible distinguirlo con la RMN y en los mejores casos la precisión diagnóstica de la RMN se aproxima al 93%.

- Presencia de anomalías focales o difusas.
- Estimación volumétrica del hígado.
- Información sobre variaciones anatómicas.

Los falsos positivos y negativos de la RMN vienen: de la infiltración grasa del músculo, edema muscular, fibrosis, la incorrecta elección de la región a evaluar...

4.7.3.2. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Protón

Técnica no invasiva, usada en escasas ocasiones, que tiene como base la RMN. Desarrollada en los años 40 para el estudio de núcleos atómicos con número impar de protones o neutrones (o de ambos).

Longo³⁴ introdujo su uso para el estudio de la esteatosis hepática en 1993. Los últimos estudios reflejan que puede ser más precisa que la RMN en el intento de cuantificación de la esteatosis hepática.³⁵ Se calcula la cantidad de agua y de grasa presente en el parénquima hepático. Es una prueba compleja, cara y de difícil interpretación.

4.7.3.3. Tomografía Computarizada, TC:

La TC ³⁶ sin contraste es capaz de diagnosticar esteatosis macrovesicular moderada a severa ($\geq 30\%$), habiéndose utilizado para descartar aquellos hígados no aceptables para trasplante. La base está en que la atenuación del bazo es 8-10 HU menos que el hígado, si el hígado tiene una atenuación más baja que el bazo esto indica una infiltración grasa del hígado o esteatosis.

Sin embargo si la esteatosis es menor de 30 %, ya no es fiable y probablemente sea necesaria la biopsia que nos confirme el diagnóstico. Hay estudios que dicen que el error de clasificación entre adecuado y no adecuado para el trasplante varía entre el 18-27%.

Algunos especialistas son categóricos y afirman que el TC no es un método clínicamente aceptable para cuantificar la esteatosis hepática.³⁷

Hay autores que evalúan la L/S ratio (ratio de atenuación entre hígado y bazo) y el punto de corte que aconsejan para excluir a aquellos pacientes con más que moderada esteatosis sería 1.1.³⁸

Pero además el depósito de hemosiderina, puede aumentar considerablemente este ratio, dando resultados teóricos de esteatosis moderada o severa, cuando realmente ésta no existe.³⁹ Otro inconveniente añadido es la exposición a radiación a la que se ven sometidos los pacientes, hecho por el cual apenas se usa este método diagnóstico en niños.



Fig.12 . TC sin contraste, hígado con atenuación muy baja respecto al bazo y lagos de grasa. Corresponde a una paciente con esteatosis severa medicamentosa.

4.7.3.4. Ecografía:

La ecografía hepática, como técnica no invasiva se utiliza frecuentemente en la práctica clínica para diagnosticar esteatosis hepática.

La infiltración grasa del hígado se ha creído la causante del aumento de la ecogenicidad hepática, aumentando la interfase entre los glóbulos de grasa y los hepatocitos. Recientemente sin embargo, se ha precisado que este aumento de ecogenicidad depende del tamaño de las gotas de grasa respecto del hepatocito, en otras palabras, la esteatosis microvesicular tiene escaso efecto en el aumento de ecogenicidad del hígado.

Los grados ecográficos de hígado graso se relacionan con el grado de acumulación grasa macrovesicular, pero no con la acumulación microvesicular.

A todo esto hay que añadir que la ecografía hepática es una prueba diagnóstica explorador dependiente. Además hay que resaltar que algunos estudios nos

desaconsejan su uso en pacientes obesos mórbidos, debido a la baja sensibilidad y especificidad de esta prueba.⁴⁰

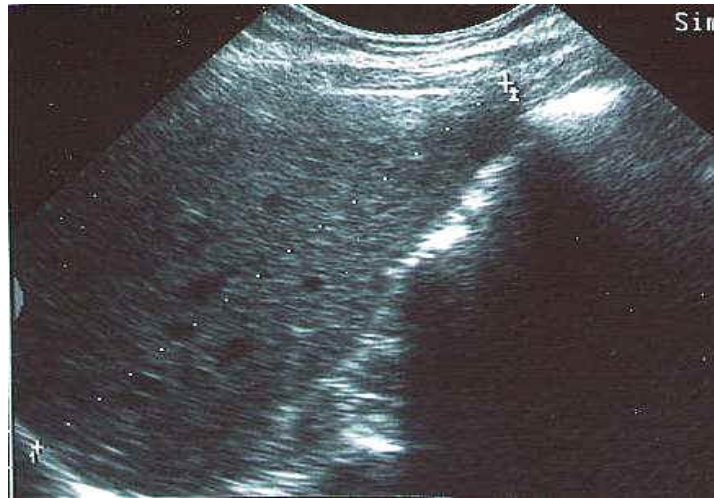


Fig. 13. Imagen ecográfica de un hígado esteatósico, con aumento de ecogenicidad.

4.7.4. Biopsia hepática

La biopsia hepática continúa siendo el *gold standard* del diagnóstico de la esteatosis hepática.

La biopsia suele ser un procedimiento muy extendido en el transcurso de una intervención quirúrgica, por vía abierta o laparoscópica. De forma rutinaria en las intervenciones de obesidad mórbida, y cuando existe el hallazgo intraoperatorio de un hígado macroscópicamente afectado de esteatosis o cirrosis.

La biopsia puede obtenerse de forma percutánea, con una aguja tipo tru-cut.



Fig. 14. Muestra procesada de un cilindro de biopsia hepática obtenido mediante una aguja tipo tru-cut

Hay ciertos factores que optimizan el rendimiento de la biopsia hepática.

- Unos dependen del clínico que toma la biopsia: el cilindro debe tener > 2 cm de longitud y 1,4 mm de diámetro y contener al menos 9 espacios porta.⁴¹
- Otros dependen del técnico, quien debe procesar de forma adecuada la muestra.
- Finalmente el patólogo debe someter el tejido a un examen microscópico sistemático.

La muestra obtenida se puede procesar mediante:

- Tinciones histoquímicas: Hematoxilina – eosina, rojo Sudán.
- Tinciones inmunohistoquímicas
- Biología molecular
- Microscopía electrónica

Aunque un estudio convencional con HE suele ser suficiente para establecer un diagnóstico preciso de la muestra obtenida.

INCONVENIENTES DE LA BIOPSIA HEPÁTICA PERCUTÁNEA.

Los inconvenientes de la biopsia hepática, a la hora de realizar un diagnóstico de esteatosis son de dos categorías:

-Por una parte, la biopsia percutánea solo toma un pequeño fragmento del parénquima, de apenas 20X2 mm., fragmento que puede no ser representativo del estado general del resto de la viscera, pudiendo llevar a un falso negativo o a un infraestadiaje, tal y como demuestra el estudio de Ratzu.⁹

Por otra parte, al ser una prueba cruenta que exige una pequeña intervención, no está exenta de complicaciones como:

- Dolor,
- hemorragia
- hipotensión transitoria
- Neumo-hemotórax,
- Peritonitis, sepsis
- Reacción alérgica a anestésicos

.

La tasa de complicaciones mayores es del 1% y la tasa global de mortalidad 0,01% al 0,33%.

4.8. TRASPLANTE HEPÁTICO, DIAGNÓSTICO DEL INJERTO ÓPTIMO

Se realizan intensos esfuerzos (más de 4.000 euros por donante⁴²) para realizar un diagnóstico preoperatorio del injerto óptimo en el trasplante hepático de donante vivo. El objetivo principal es conocer la funcionalidad del hígado del donante vivo antes de someterlos a una anestesia general. Los diagramas para conocer la validez del hígado varían sutilmente en dependencia del centro al que nos refiramos.

Protocolo de Evaluación de Potenciales Donantes Vivos de Hígado. Universidad de Essen , Alemania.	
Paso 1	Evaluación clínica y examen físico Laboratorio: grupo sanguíneo, hemograma, bioquímica, coagulación, PCR, test de embarazo Serología de VHA, VHB, VHC, VIH, CMV, HSV, EBV Primer consentimiento informado
Paso 2	Estudios de imagen: TC Biopsia hepática Primer examen psicológico
Paso3	Estudios especiales: ECG, Rx tórax, espirometría, ecocardiografía, prueba de esfuerzo Laboratorio: función tiroidea (TSH, T3, T4) inmunoglobulinas Ig A, Ig G, Ig M, hierro, transferrina, ferritina, α 1- antitripsina, ceruloplasmina, marcadores tumorales (CEA, AFP, Ca 19-9), factores V, VII y VIII, proteína C, proteína S, sedimento urinario Primera donación autóloga del donante Interconsulta si se precisara
Paso 4	Segunda evaluación psicológica (donante y receptor conjuntamente) Consulta hepatólogo Segunda donación autóloga del donante
Paso 5	Tipaje HLA, cross-match Consulta anestesista Evaluación del comité de ética Último consentimiento informado

Tabla 2. Protocolo de evaluación de los potenciales donantes hepáticos vivos, Essen, Alemania.

También se invierten gran cantidad de recursos para determinar la validez del hígado en el donante cadáver. Sin embargo la calificación y cuantificación del hígado esteatósico no se determina hasta la realización del explante.

Si pudiéramos cuantificar la esteatosis hepática antes de movilizar a todo un equipo de trasplante, para los donantes cadáver, ahorraríamos gran cantidad de recursos.

Centrándonos en el trasplante de hígado de donante vivo, hay autores que han cuestionado la utilidad de la biopsia percutánea de forma rutinaria. Si bien es verdad que hasta el momento es el método preoperatorio con mayor fiabilidad (descartando por el momento el TC y otras pruebas de imagen -ultrasonidos, RMN-, las determinaciones enzimáticas etc.).

Por el momento el criterio de la Keio University (Japón) es realizar la biopsia preoperatoria en el donante vivo en los casos en los que la ratio Liver/Spleen sea <1.1 ³⁸; para discriminar esteatosis hepática y anormal reserva funcional hepática. La ratio Liver/Spleen es el grado de atenuación que se encuentra comparando hígado y bazo al realizar un TC sin contraste.

Para algunos especialistas, la biopsia sigue siendo el estándar. En una revisión realizada conjuntamente por cirujanos alemanes y estadounidenses⁴³, se estudiaron 144 posibles donantes vivos que ya habían pasado la evaluación no invasiva. A estos 144 pacientes se les realizó biopsia con aguja de tru-cut o con aguja de Menghini. 31 de los cuales tenían afectación que podía invalidar el trasplante, 21 esteatosis (15 de los cuales fueron excluidos para trasplante), y los 10 restantes otro tipo de hepatopatía (hepatitis no A-D, granulomatosis, esquistosomiasis o fibrosis).

Sin embargo el 26% de los programas de trasplante de en Estados Unidos no realiza ningún tipo de biopsia en donante vivo.⁴⁴ 60 % sólo lo realiza en algunos casos y 14% lo realizan en todos los casos.^{20,38}

Podríamos decir que existen dos posturas con respecto a la biopsia hepática como método de evaluación de los donantes:

A FAVOR DE REALIZAR BIOPSIA HEPÁTICA EN EL TRASPLANTE

- Existen casos que tras la evaluación no invasiva favorable, se encontró con la biopsia afectación hepática que contraindicaba el trasplante⁴⁵. Como en la revisión de Hasegawa⁴⁶, sin la biopsia hepática preoperatoria una proporción de potenciales

donantes serían operados inadecuadamente, arriesgando tanto la vida del donante como del receptor.

- Existe un caso publicado de suspensión de trasplante de donante vivo, porque se encontró patología en la biopsia intraoperatoria. Se trataba de una donante que ecográficamente tenía un discreto hígado graso y que tras un tratamiento con dieta y ejercicio mejoraron sus parámetros, incluido el ratio hígado-bazo en TC, considerando la biopsia hepática como innecesaria. La anatomía patológica encontrada intraoperatoria fue primer grado de colangitis esclerosante primaria, y la esteatosis afectaba al 10% del parénquima hepático ⁴⁵.
- Otro caso de cancelación de trasplante en último minuto después de que se detectara fibrosis hepática ⁴².
- Un caso de muerte de donante vivo como consecuencia del síndrome “small for size”, por el hígado esteatósico remanente ⁴².
- En algunas series se ha encontrado que ninguna de las pruebas de imagen realizadas en la revisión ⁴², salvo un caso, detectaron los 21 pacientes con esteatosis (a pesar de realizarse ultrasonidos, RM, y TC). El único caso fue demostrado por ecografía.
- 1.3% de morbilidad y 0 % de mortalidad en el donante ⁴².
- Existen altas tasas de disfunción primaria (entre 10 y 84%) en casos de hígados trasplantados con esteatosis hepática severa ⁴.

EN CONTRA DE REALIZAR BIOPSIA HEPÁTICA EN EL TRASPLANTE

- Se ha reconocido un caso de fístula arterioportal⁴⁷.
- Algunos estudios sugieren que existe una distribución no homogénea de la esteatosis a lo largo del parénquima hepático¹⁸⁻⁹.
- Se han reportado 2 casos de hematomas intraparenquimatosos⁴², uno de los cuales desarrolló una colestasis intraparenquimatosa por compresión.
- Las complicaciones conocidas de realizar biopsia en pacientes no donantes (en la serie más grande reportada hasta la fecha): 30% dolor 1% tienen riesgo de sangrado. Perforación intestinal y muerte ocurren en raras ocasiones⁴⁴. También se han descrito hemo-neumotórax, reacción alérgica a los anestésicos.
- El hecho de realizar una biopsia hepática y su posterior análisis anatomopatológico supone un retraso, que en muchos casos (sobre todo en donante cadáver) no puede ser asumido.

4.9. FISOPATOLOGÍA DEL FALLO DEL INJERTO TRAS ISQUEMIA-REPERFUSIÓN DE UN HÍGADO ESTEATÓSICO

⁴Hay diversas teorías acerca del mecanismo por el que se produce la disfunción primaria del injerto en el hígado esteatósico, globalmente todas enfocan la patología hacia una alteración de la microcirculación del sinusoides hepático y un deficiente metabolismo del hepatocito.

Alteración de la microcirculación:

-Los hepatocitos hinchados por las gotas de grasa comprimen y distorsionan los sinusoides hepáticos, ocasionando resistencia portal intrahepática. Lo que aumenta la sensibilidad a la anoxia, especialmente durante la reperfusión.

Así lo demuestra Hui²² en su estudio en el que somete a isquemia normotérmica al hígado de rata durante 30, 45 y 60 minutos, con posterior reperfusión; un grupo con hígado sano y otro grupo con hígado esteatósico conseguido mediante dieta deficiente en colina. La supervivencia era claramente inferior en el grupo de hígado esteatósico. Al microscopio óptico se evidenciaron alteraciones exclusivamente en el grupo esteatósico: hemorragia focal, disrupción de la microvasculatura de los sinusoides.... El ATP (adenosin trifosfato) no se restauraba con la misma velocidad en el hígado sano que en el esteatósico (en este último más despacio).

Incluso hay autores ⁴⁸ que afirman que esta alteración sinusoidal ocasiona una incorrecta perfusión de la solución de preservación.

D'Alessandro⁴⁹ sin embargo, entiende que es ésta solución de preservación fría, la que puede ocasionar la solidificación de la grasa ocasionando entonces el daño celular.

Algunos autores han intentado investigar alteraciones de la subcelulares al microscopio electrónico, encontrando que los injertos hepáticos de aquellos pacientes que han sufrido disfunción primaria del injerto pueden tener cambios en la ultraestructura de la mitocondria en las biopsias realizadas previamente a la perfusión.⁵⁰

Alteraciones metabólicas:

-El daño durante la reperfusión se debe a un ineficiente metabolismo anaeróbico durante el proceso de isquemia reperusión (tanto fría como caliente), que consume las moléculas de ATP produciendo ácido láctico. Esto se ve incrementado en los hígados esteatósicos que producen menos ATP en la mitocondria y acumulan ácidos grasos no esterificados.

Estudios experimentales como los de Hayashi, demuestran que tras 9 horas de preservación, las mitocondrias de los hígados esteatósicos pierden la mayor parte de su capacidad de fosforilación oxidativa.⁵¹

Los estudios de Fukumori⁵² demuestran que en los hígados esteatósicos de ratas obesas tipo Zucker, tiene lugar una disminución rápida de la actividad ATPasa (enzima clave en la fosforilación oxidativa mitocondrial) tras 6 horas de preservación.

Otros hallazgos:

Existen otros postulados del daño hepático en la isquemia reperfusión, como la activación de las células de Kupffer, la suelta de vacuolas de grasa que alteran la microcirculación⁵³, el aumento en la formación de radicales libres... todo esto parece afectar a la microcirculación.²³

En trasplante del donante cadáver, la esteatosis de más del 30% puede conllevar un riesgo de disfunción primaria del injerto hasta del 13%, siendo en injertos no esteatósicos del 2,5%.

A cada porcentaje que aumenta la esteatosis se reduce la masa funcional del injerto también al 1 %.⁵⁴ Marcos realiza biopsia percutánea en todos los donantes vivos, para calcular el parénquima hepático funcional real, y establecer si el injerto será de suficiente para el receptor sin poner en ningún momento en riesgo la vida del donante.

4.10. EVOLUCION DEL INJERTO DE HÍGADO CON ESTEATOSIS.

Table 1. Clinical Data on Transplantation of Fatty Livers						
Reference (year)	Journal	No. of Donors	Biopsy Stain Used	Steatosis Grading	Steatosis Rates (%)	PNF Rates (%)
Adam et al ³⁷ (1992)	<i>Transplant Proc</i>	390	NS	None Mild Moderate Severe	83 9.2 6.1 1.8	2.5 NS 13
D'Alessandro et al ² (1991)	<i>Transplantation</i>	124	H&E	None Mild, moderate Severe	72 21 7	3.4 3.8 88
Mor et al ⁴¹ (1992)	<i>Transplantation</i>	365	No biopsy	Donor weight < 100 kg >100 kg	97 3	15.9 55.6
Markin et al ⁹ (1993)	<i>Transplantation</i>	385	H&E ORO (abandoned)	None 0%-30% 30%-45% >45%	86 7.3 0.26 5.8	1.4 Excluded
Ploeg et al ³⁹ (1993)	<i>Transplantation</i>	158	NS	None Mild Moderate Severe	72 19 6 3	5 5 0 80
Fishbein et al ³⁵ (1997)	<i>Transplantation</i>	426	NS	None Moderate microvesicular Severe microvesicular	91 3.5 5.5	5 5.1
Urena et al ⁷ (1998)	<i>Transplant Proc</i>	72	SIH	None < 30% macro/ micro >60% micro >60% macro	57 12.5 30.5	0 0 22.2
Canelo et al ⁷⁰ (1999)	<i>Transplant Proc</i>	80	NS	None Mild Moderate Severe	25 45 18 12	10 6 14 10
Hayashi et al ²⁷ (1999)	<i>Transplant Proc</i>	338 living related	NS	None Mild Moderate Severe	88 7.3 3.8 0.9	6* 21* 24* 24*
Yoong et al ³⁶ (1999)	<i>Transplant Proc</i>	116 retransplantations	NS	None <33% 33%-66% microvesicular >66% microvesicular	NS NS NS 8.6	NS NS NS NS
Abbreviations: ORO, Oil red O; SIH, Sudan III; NS, not stated. *One-month survival, non-PNF rate.						

Tabla 3. Datos clínicos de hígados esteatósicos trasplantados, tomado de la referencia

4.

En la tabla-3 se expone un metanálisis⁴ sobre trasplante de hígado esteatósico incluyendo la supervivencia del receptor. Analizando exclusivamente los 390 casos de Adam, observamos que la disfunción primaria del injerto pasa del 13 % al 2,5 % en función de la presencia o ausencia de esteatosis.

D'Alessandro, con una muestra más pequeña, encuentra una intensa asociación (88%) entre la esteatosis severa y la disfunción primaria.

Hay algunos estudios más recientes como el de Verran⁵⁵, que incluye 120 pacientes que recibieron hígados con diversos grados de esteatosis que encuentra:

- Pobre función inicial asociada más frecuentemente a aquellos hígados con grados moderados o severos de esteatosis que en los que tenían esteatosis leve.
- Un paciente que había recibido un injerto con esteatosis severa sufrió de una disfunción completa del injerto.
- La supervivencia a los 3 meses, tanto del paciente como del injerto era significativamente menor en los grados moderado y severo de esteatosis.
- La pérdida del injerto al año era significativamente mayor en aquellos hígados con esteatosis moderada o severa.

Aunque la esteatosis puede regresar al cabo de unas semanas después del trasplante hepático, la infiltración grasa afecta significativamente a la recuperación de la función inicial y a la capacidad de regeneración⁵⁶. Cuando la esteatosis supera el 60% hay consenso de desechar estos injertos por las altas tasas de disfunción primaria, salvo en aquellos protocolos que emplean soluciones específicas de preservación, con un corto tiempo de isquemia fría.

Aquellos hígados con esteatosis moderada (30-60%), suponen un reto. La tasa de disfunción primaria puede alcanzar el 15%, y la tardía puede alcanzar el 35%. En estos casos se requiere una evaluación cuidadosa y evitar cualquier otro factor adverso, en especial se debe insistir en disminuir el tiempo de isquemia fría.

4.11. MODELOS ANIMALES DE ESTEATOSIS^{57,58,59}

Se han realizado muchos estudios sobre las causas de esteatosis y su evolución, también existen multitud de estudios experimentales.. A lo largo de la investigación ha sido necesario obtener modelos animales que asemejen la esteatosis hepática humana; para poder encontrar los diferentes hitos celulares y/o moleculares en el desarrollo de esteatohepatitis .

Estos modelos nos permiten mejorar el conocimiento de esta patología, tanto en el aspecto etiopatogénico, como en la historia natural de la enfermedad. A su vez nos sirven para ensayar aquellos fármacos que tratan de prevenirla o evitar su progresión.

4.11.1. Modelos genéticos:

4.11.1.1. Ratones ob/ob

Se trata de ratones que tienen mutado el gen ob, que codifica la leptina, por lo tanto estos ratones no la pueden sintetizar. Con la ausencia de esta hormona estos ratones acusan hiperfagia, inactividad y finalmente se vuelven obesos. También desarrollan una resistencia a la insulina que conlleva hiperglucemia e hiperlipidemia; y además espontáneamente desarrollan hígado graso. Ciertos insultos sobre estos hígados esteatósicos producen esteatohepatitis, cuestión que no se produce en ausencia de esteatosis.

4.11.1.2. Ratones Db/db

Son ratones que tienen mutado el receptor de la leptina. Se comportan igual que los ratones ob/ob, exceptuando que sí pueden sintetizar leptina. Algunos estudios también la denominan ratones fa/fa.

4.11.1.3. Ratones lipoatróficos

Se obtienen genéticamente modificados con:

-Expresión de la toxina de la difteria

-Expresión de PEPCK-nSREBP-1 α (fosfoenol piruvatokinasa que se une al elemento regulador de colesterol adjunto a la proteína I).

Ambos modelos generan lipoatrofia con resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y esteatosis hepática. El mecanismo se basa en que la ausencia de tejido graso impide la síntesis de leptina, estando ausente como en los ratones ob/ob.

Este modelo demuestra que la obesidad por sí sola no causa esteatohepatitis no alcohólica.

4.11.1.4. Ratones AOX^{-/-}2

Son ratones sin expresión de la acetil-coA oxidasa. Tienen un déficit en la oxidación peroxisomal y desarrollan esteatosis en 7 días.

4.11.1.5. Ratones MAT1A^{-/-}

En este caso los ratones no expresan la metionina transferasa; en 8 meses desarrollan de forma espontánea esteatohepatitis.

4.11.1.6. Ratones NRF1^{-/-}

Son ratones a los que se les ha eliminado el gen Factor respiratorio nuclear 1 exclusivamente en el hígado (dado que a nivel global es letal). Este es un gen que codifica un factor de transcripción esencial contra el estrés oxidativo. En estos ratones se observa esteatohepatitis en 4 semanas.

4.11.1.7. Ratones PTEN flox/flox

Son ratones a los que se les ha eliminado la fosfatasa y el homólogo a la tensina en el cromosoma 10. Se trata de un gen supresor de tumores que codifica una fosfatasa lipídica. Desarrollan una forma muy similar a la esteatohepatitis no alcohólica humana en 10 semanas.

4.11.2. Modelos dietéticos.

4.11.2.1. Dieta deficiente en colina metionina

Es una dieta deficitaria de antioxidantes hepática, así ante un stress oxidativo se induce la producción de α -TNF y otras citoquinas proinflamatorias que finalmente llevan hasta la resistencia insulínica y la esteatohepatitis no alcohólica. Koca⁶⁰ obtuvo ratas con hígado esteatósico en 8 semanas.

4.11.2.2. Dieta modificada con alto contenido graso y bajo en colina metionina.

Cong⁶¹ consiguió en 23 semanas ratones con hígados esteatósicos con una dieta que contenía 60% de grasas, 14% de proteínas y 26% de carbohidratos (lo normal para ratones es 12%, 26% y 62% respectivamente). Esta dieta es deficiente en colina y metionina.

4.11.2.3. Dieta baja en colina y metionina en asociación con alcohol

Gyamfi⁶² produjo esteatosis masiva en ratones con la combinación de dieta deficiente en colina y metionina a la que añadió alcohol. El alcohol suponía en este estudio el 27 % de la ingesta calórica de los ratones.

4.11.2.4. Alcohol

Gyamfi también fue capaz de inducir esteatosis exclusivamente con alcohol.

Lu⁶³ consiguió ratones con macroesteatosis tras 4 semanas de alimentación con alcohol, que constituía hasta el 35 % de las calorías (con un incremento progresivo de este porcentaje desde el 10% hasta el 35%).

4.11.3. Modelos en grandes animales

Se han descrito muy pocos modelos de esteatosis en grandes animales, la mayoría de ellos se basan en la producción de esteatosis a través de un mecanismo tóxico por la ingesta de alcohol.

-Mets⁶⁴ administró 1g/kg de alcohol (100%) en una proporción 1:3 con agua a través de sonda nasogástrica durante 16 días, y esos cerdos desarrollaron esteatosis.

-Spannbauer⁶⁵ consiguió esteatosis hepática en cerdos, tanto con ingesta enólica aislada, como con una dieta deficiente en proteínas (8,5 % frente al 17,5% habitual en la dieta porcina) o con la suma de los 2 modelos.

4.11.4. Modelos combinados.

Se han utilizado modelos genéticos junto con modificaciones dietéticas.

5.BIOIMPEDANCIA

5. BIOIMPEDANCIA

5.1. FÍSICA BÁSICA⁶⁶

CONCEPTOS BÁSICOS:

El camino que siguen los electrones al atravesar cualquier medio desde un polo hasta el contrario o a un polo neutro (tierra) se denomina circuito eléctrico.

En los materiales conductores de electricidad, los electrones son capaces de viajar de un átomo a otro sin ninguna dificultad, en contraste los materiales malos conductores poseen pocos electrones en movimiento.

Resistencia: es la propiedad de un objeto o sustancia referente a su oposición del paso de una corriente eléctrica. Su símbolo es R. Su unidad de medida es el ohmio, que se designa con la letra griega $[\Omega]$.

La resistencia que ofrecen los tejidos al paso de la corriente alterna (impedancia) tiene dos componentes, por una parte la resistencia y por otra la denominada reactancia..

Impedancia: es un concepto similar a la resistencia pero aplicado a la corriente alterna. Su símbolo es Z. También se expresa en ohmios.

Resistividad: grado de dificultad que encuentran los electrones en sus desplazamientos. Se designa por la letra griega $[\rho]$ y se mide en $[\Omega m^{-1}]$.

Permitividad: es una constante física que describe cómo un campo eléctrico afecta y es afectado por un medio. La permitividad de un material se expresa en relación a la permitividad del vacío, denominándose permitividad relativa, ϵ_r (también llamada constante dieléctrica en algunos casos).

La permitividad del vacío $\epsilon_0 = 8,8541878176 \cdot 10^{-12} [Fm^{-1}]$. Donde F es el símbolo de faradio.

La permitividad absoluta es $\epsilon = \epsilon_r \epsilon_0$.

Conductividad: es la capacidad de un cuerpo de permitir el paso de la corriente eléctrica a través de sí. Su símbolo es σ .

Su unidad de medida es $[S \cdot m^{-1}]$ donde S significa Siemens.

La relación entre conductividad y resistividad es: $\sigma = \frac{1}{\rho}$

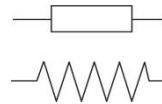
SIMBOLOGÍA



Fuente



Condensador



Resistencia



Línea de circuito eléctrico

5.1.1. Resistencia-impedancia

Los electrones a lo largo del circuito pueden encontrar un obstáculo a su paso que se denomina resistencia o impedancia –según sea corriente continua o alterna respectivamente- y, como se ha explicado en el apartado anterior, se mide en ohmios [Ω]. Normalmente en el caso de los tejidos se usa corriente alterna, para evitar la polarización que provoca la corriente continua, la cual enmascara muchas mediciones.

Como se verá más adelante la resistencia es la parte real de la impedancia.

La ley de Ohm dice que cuando a una resistencia se le aplica una diferencia de potencial o tensión (V), aparece una corriente de salida o intensidad (I) que es inversamente proporcional al valor de la resistencia y directamente proporcional a la tensión aplicada. La tensión se mide en voltios [V] y la intensidad se mide en amperios [A].

$$I = V/R$$

I = Intensidad de la corriente [A].

V = Tensión [V].

R = Resistencia [Ω].

Impedancia y su relación con la frecuencia:

Z = Impedancia [Ω].

$$Z = V / I$$

V = Tensión [V]

I = Intensidad de corriente [A]

$$Z = R + jX$$

R = Resistencia [Ω]

X = Reactancia [Ω] donde:

X = ωL (si su comportamiento es como una bobina)

X = $-1/\omega C$ (si su comportamiento es como un condensador)

siendo:

$$\omega = 2\pi f \text{ (rad/s)}$$

f = frecuencia [Hz] Hercio.

L = inducción [H] Henrio.

C = Capacidad [F]. Faradio.

La impedancia es un número complejo. La parte real de la impedancia es la resistencia (R) y su parte imaginaria es la reactancia (X). La reactancia la obtenemos de 2 formas diferentes, según nos encontremos ante un elemento que se comporta como una bobina o como un condensador. En cualquier caso ω es la frecuencia angular a la cual está sometido el elemento, y L y C los valores de inductancia y capacitancia respectivamente.

A nivel biológico la frecuencia usada en la medición de la impedancia es de importancia vital, tal y como demuestra el concepto de la permitividad.

5.1.2. Permitividad⁶⁷

La permitividad está determinada por la tendencia de un material a polarizarse ante la aplicación de un campo eléctrico y de esa forma anular parcialmente el campo interno del material

Por ejemplo, en un condensador una alta permitividad hace que la misma cantidad de carga eléctrica se almacene con un campo eléctrico menor y, por ende, a un potencial menor, llevando a una mayor capacitancia del mismo.

Las propiedades eléctricas de los biomateriales se obtienen de la medida de la permitividad, expresada como:

$$\hat{\epsilon} = \epsilon' - j\epsilon''$$

Donde ϵ' es la permitividad real del material y ϵ'' el factor de pérdida de fase.

$$\epsilon'' = \sigma / \epsilon_0 \omega$$

σ es la conductividad del material, que depende de la naturaleza de la muestra. Se expresa en ($S m^{-1}$)

ϵ_0 es la constante dieléctrica $8,8541878176 \times 10^{-12} F/m$.

ω es la frecuencia angular del campo

La permitividad relativa de un tejido puede alcanzar valores de 10^6 a 10^7 a frecuencias por debajo de 100 Hz.

La permitividad disminuye a altas frecuencias siguiendo 3 patrones:

- La dispersion γ en la región de los gigahertzios, que se debe a la polarización de las moléculas de agua.
- La dispersion β en la región de los cientos de kilohertzios, debida a la polarización de las membranas celulares que actúan como barreras al paso de los iones y también debida a la polarización de las proteínas y otras moléculas orgánicas.
- La dispersión α en las bajas frecuencias, que se asocia a la difusión iónica.

En resumen: la permitividad y en su relación a través de la conductividad con la impedancia varía con frecuencia utilizada, por ello la elección de ésta es de importancia decisiva. Generalmente a mayor frecuencia mayor conductividad y menor BI. La medición de la impedancia se puede realizar con corrientes de una sola o varias frecuencias.

A frecuencias bajas se asume que la impedancia es básicamente dictada por la presencia de líquido extracelular y a frecuencias más altas predomina el efecto de las membranas celulares, se estima que las mediciones multifrecuencia son más adecuadas para medir la BI real de los tejidos.

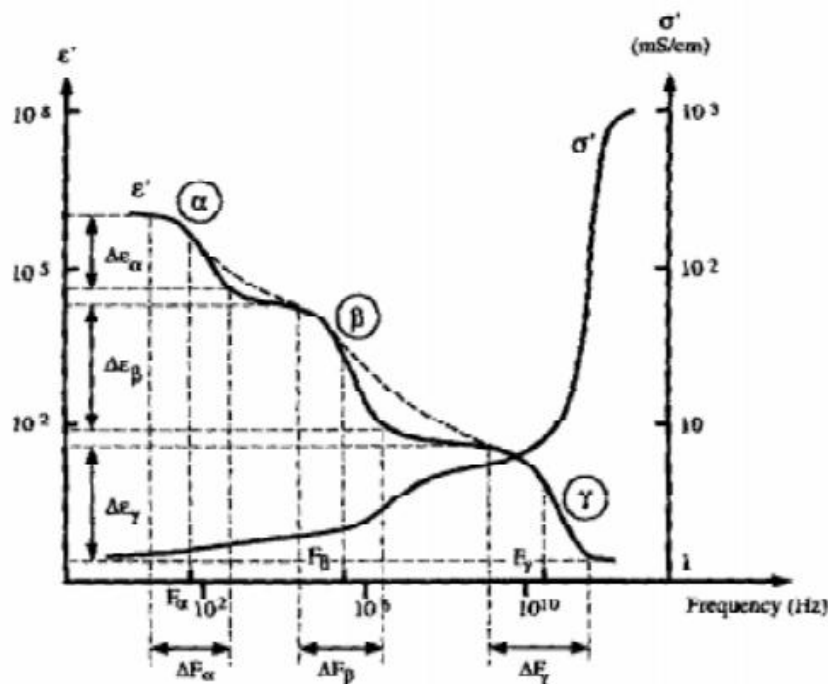


Fig. 15. La permitividad (ϵ') de los tejidos depende de la frecuencia utilizada. Schwan⁶⁸

Se ha descrito un modelo (Cole) como modelo teórico de interpretación de los fenómenos que ocurren en los tejidos al paso de la corriente, en este modelo las células de los tejidos se asumen como una suspensión de esférulas dentro de una solución salina. Se trata de una solución relativamente sencilla que se ajusta a los datos experimentales, dado que la función que responde a los mecanismos físicos que se producen en el dieléctrico acostumbra a dar soluciones matemáticamente muy complejas.

$$\varepsilon^* = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty}}{1 + j\omega(\tau_c)^{(1-\alpha)}} - j \frac{\sigma_s}{\omega\varepsilon_0}$$

Fig. 16. Ecuación de Cole

En esta expresión el parámetro α da idea del grado de dispersión de las constantes de tiempo asociadas al fenómeno de la relajación dieléctrica. Si $\alpha=0$, indica que sólo hay una constante de tiempo y la expresión compleja de la permitividad coincide con la ecuación de Debye.

De los datos obtenidos en la literatura se puede extraer que, aún dentro de rangos más o menos estrechos, las frecuencias adecuadas pueden ser distintas en cada tejido. Aunque las mediciones de BI se realizan, en la mayoría de los trabajos, con frecuencias elevadas, existen publicaciones en las que, paradójicamente, son los rangos más bajos de frecuencias en los que se encuentran las mayores diferencias entre tejidos grasos y sanos.⁶⁹

5.1.3. Conductividad

Conductividad y resistencia están relacionadas:

$$R = \frac{1}{\sigma} \cdot \frac{L}{S}$$

σ (S m⁻¹) es la conductividad

L (m) es la longitud del conductor

S (m²) es la sección a través de la cual fluye la corriente.

El concepto de conductividad habla más de las propiedades de conducción de los tejidos que el concepto de resistencia, ya que la resistencia depende del volumen de tejido que debe atravesar la electricidad

Las cifras de resistencia obtenidas dependen de la longitud medida, y de la sección del conductor, conocida la longitud y sección del conductor. La conductividad intrínseca del tejido es equivalente a la resistencia..

5.1.4. Conductividad de los tejidos.

Cada tejido del organismo posee una diferente conductividad eléctrica. Entre las causas que modifican la conductividad se encuentran:

- Proporción de suero fisiológico que presentan los tejidos, y su estado de hidratación. El suero fisiológico presenta una conductividad máxima de la electricidad, suero que está presente tanto en el líquido extracelular como en el interior de las células. Los tejidos que poseen una gran cantidad de suero tendrán conductividad más alta. Faes⁷⁰ encuentra una fuerte correlación lineal entre la conductividad y la cantidad de agua de los tejidos.

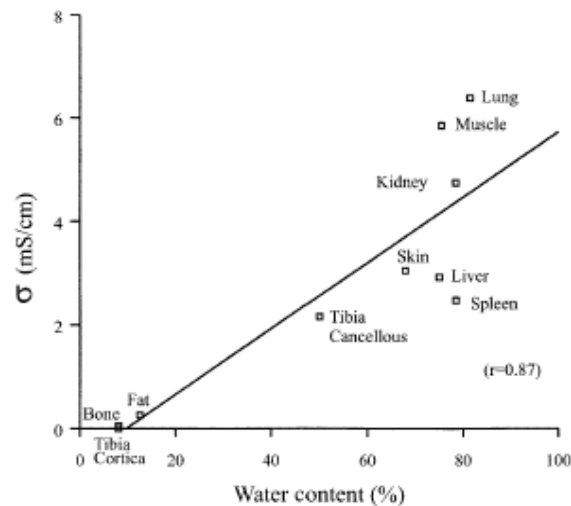


Fig. 17 . Relación entre % de agua de los tejidos y conductividad media. Faes.⁷⁰

- Las membranas celulares.
- Cantidad de proteínas presentes.
- Conductividad específica del tejido.
- Temperatura.
- Irrigación del tejido.
- pH del tejido.
- Frecuencia de la corriente eléctrica utilizada para realizar la medición, cuanto más alta es la frecuencia utilizada menor es la impedancia (curva de Schwan).
 - Cuando la medición se realiza con una mono-frecuencia se suele utilizar una corriente de 50 kHz.
 - Las mediciones multi-frecuencia son más adecuadas para medir la BI real de los tejidos. En general las frecuencias altas son más eficaces que las frecuencias bajas a la hora de obtener datos más fiables.

La variación de la conductividad de los diferentes tejidos en una especie (ver fig. 18) sobrepasa ampliamente las variaciones que encontramos de un sólo tejido entre distintas especies. Éstas no son significativamente diferentes salvo en bajas frecuencias,⁷¹ como demuestra el trabajo de Gabriel S.

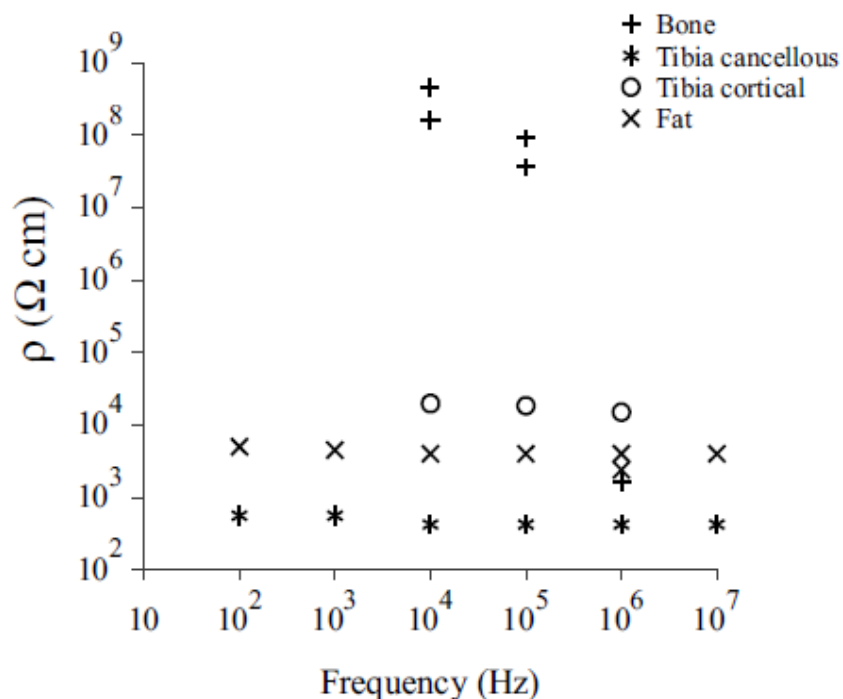


Fig. 18 Variabilidad en la resistividad en diferentes tejidos de la especie humana según Faes.⁷⁰

En la siguiente tabla se muestran las diferentes impedancias según los diferentes tipos de tejidos⁷⁰, en situaciones fisiológicas comunes (atención, en caso de severa deshidratación o sobrecarga de líquidos, se pueden alterar de forma considerable las mediciones):

Tejido	Resistividad (Ωm^{-1})
Sangre	150
Pulmón	157
Hígado	342
Grasa	3850

Tabla 4. Impedancia de diferentes tejidos.

Como podemos ver en este cuadro, la grasa se comporta como un gran obstáculo al paso de la corriente eléctrica. La presencia de grasa en el parénquima hepático podría ocasionar una alteración de las propiedades conductivas basales de la víscera, diferencia que podría medirse.

Se han realizado estudios de conducción eléctrica de los tejidos para determinar la proporción de grasa de los mismos, a nivel industrial se utiliza la determinación de la BI para determinar la cantidad de grasa presente en la carne porcina, dado que cuando es entre el 2-3% en el músculo *longissimus dorsi* el sabor de esta carne es óptimo.⁷²

Se atribuye esta diferencia a la presencia de grasa intracelular (que altera la conducción) y a la disminución del espacio extracelular.⁶⁹

Las determinaciones de la resistencia de los tejidos tienen aproximadamente un siglo de historia. Concretamente a nivel hepático las primeras determinaciones reportadas son de Osswald⁷³ 1937, y ya existen algunas publicaciones sobre mediciones de BI en hígados afectados de esteatosis hepática en pequeños animales⁶⁹⁻⁷⁴.

5.1.4.1. Modelos teóricos⁷⁵

Así como la determinación de la resistencia en objetos inanimados puede ser perfectamente predecible y cuantificable con arreglo a las leyes físicas convencionales, no se conoce en profundidad los mecanismos físicos que determinan y hacen variar las cifras de BI en organismos vivos (dada la compleja ultraestructura de los mismos). Para intentar comprender los fenómenos que ocurren se han diseñado diversos modelos de comportamiento de los tejidos y las células ante el paso de la electricidad.

→ La mayoría de los tejidos son tratados como suspensiones celulares, con algunas excepciones (como el músculo cuyas células tienen una estructura y orientación determinadas). En el caso que nos interesa –hígado– el modelo utilizado es una suspensión celular, según el modelo de Fricke.⁷⁶

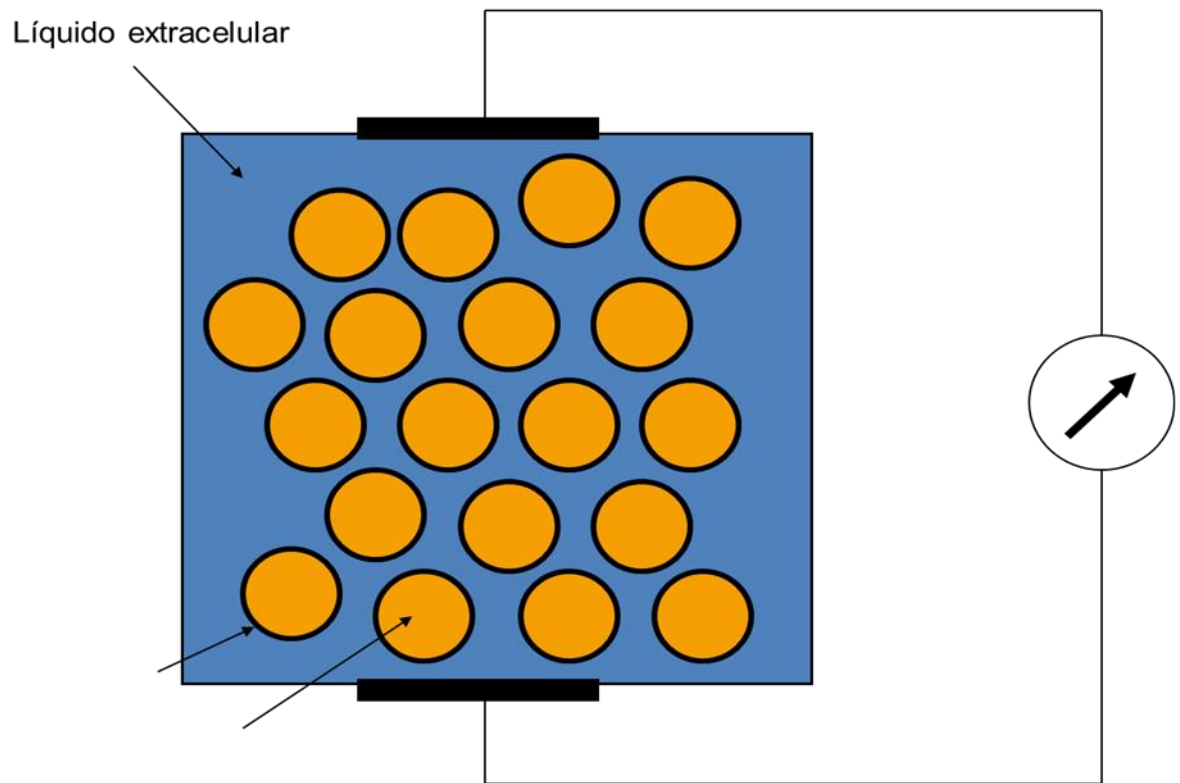


Fig. 19 Modelo de Fricke de medición de impedancia

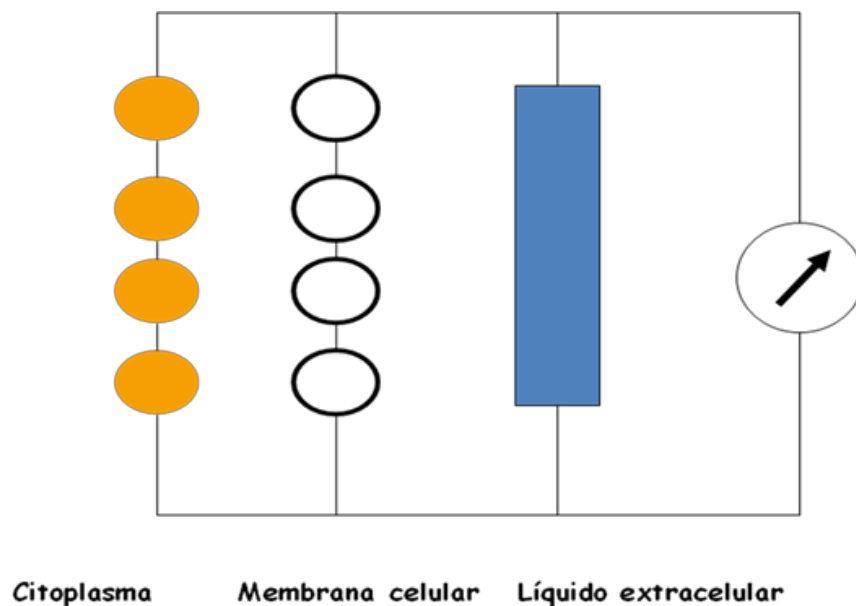


Fig. 20 Diferentes elementos a tener en cuenta en el modelo de Fricke

Los tejidos puede descomponerse, de forma simplificada, en líquido extracelular y células, y estas en membrana celular y citoplasma, cada una de ellas con unas propiedades bioeléctricas diferentes. En el modelo anterior el circuito puede

descomponerse en una serie de componentes en paralelo (este modelo solo tiene en cuenta el efecto resistivo de los materiales biológicos y no el capacitivo)

→ Los tejidos biológicos se pueden modelar como circuitos **eléctricos**, para ayudarnos a interpretar la BI.

La idea de su utilización es la representación más clara de los procesos fisiológicos medidos mediante bioimpedancias, ya que estos mecanismos fisiológicos se pueden asociar, a priori, de una manera más sencilla a comportamientos de elementos resistivos o capacitivos, que a los coeficientes de la ecuación matemática.

La base de esta modelación es una célula inmersa en un medio iónico, donde:

- R_i : resistencia del medio intracelular
- R_e : resistencia del medio extracelular
- C_{mc} : capacidad de la membrana celular
- R_{mc} : resistencia de la membrana celular

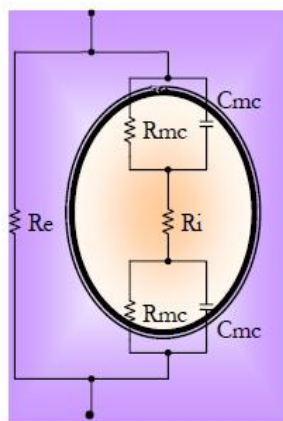


Fig. 21 Modelo tisular de circuito eléctrico

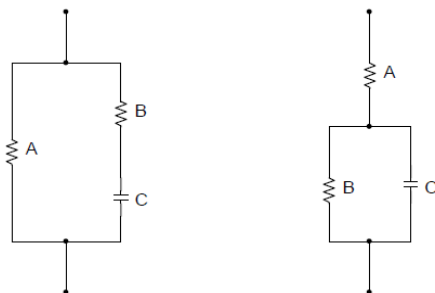
En este modelo la célula y el espacio extracelular se comportan como un sistema de resistencia y condensador en paralelo, y la célula a su vez se divide en otros tantos circuitos de condensador y resistencia (por efecto de la membrana celular) y una resistencia en serie por efecto del citoplasma, aunque el citoplasma dista mucho de ser una estructura uniforme ya que está compuesta por orgánulos rodeados de membranas que se comportan también como circuitos en paralelo de resistencia y condensadores.

→Sin embargo la complejidad de los tejidos biológicos, como medios heterogéneos nos hacen utilizar para su explicación **modelos matemáticos** más complejos como el de Cole-Cole.

$$\varepsilon^* = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + j\omega(\tau_c)^{(1-\alpha)}} - j \frac{\sigma_s}{\omega \varepsilon_0}$$

Fig. 22 Ecuación de Cole-Cole

Su representación en modelo eléctrico y las complejas ecuaciones características se muestran a continuación.



$$A = R_0; B = \frac{R_0 R_\infty}{R_0 - R_\infty} \quad A = R_\infty; B = \Delta R = R_0 - R_\infty$$

$$C = -j \left(\frac{R_0^2}{R_0 - R_\infty} \right) \left(\frac{f_e}{f} \right)^{(1-\alpha)} \quad C = -j \Delta R \left(\frac{f_e}{f} \right)^{(1-\alpha)}$$

Fig. 23 Circuito eléctrico del modelo de Cole-Cole

→Parramon et al⁶⁹, describieron diversos modelos matemáticos que explicaban la causa del aumento de impedancia hepática en correlación con el aumento de grasa en los hepatocitos de ratas. En su trabajo modelaban los tejidos como un sistema de multitud de puntos con resistencias constantes y conocidas (como la grasa, el suero, la membrana celular etc.), de esta forma podían simular las alteraciones que ocurren a nivel de los tejidos como un cambio en el número de puntos con resistencia constante. En la Fig-23 podemos ver un esquema de su modelo. El primer esquema correspondería al tejido normal o control, existe un espacio extracelular y un espacio celular. En el modelo 1 aumentaba la grasa citoplasmática y disminuía el espesor de la membrana. En el modelo

2 aumentaba solo la grasa dentro del citoplasma. En el modelo 3 aumentaba la grasa en el citoplasma y disminuía el espacio intercelular. Los autores concluyeron que el modelo que más se aproximaba a los datos experimentales que obtuvieron era el último, donde la presencia de grasa intracelular también producía un efecto de disminución del espacio extracelular.

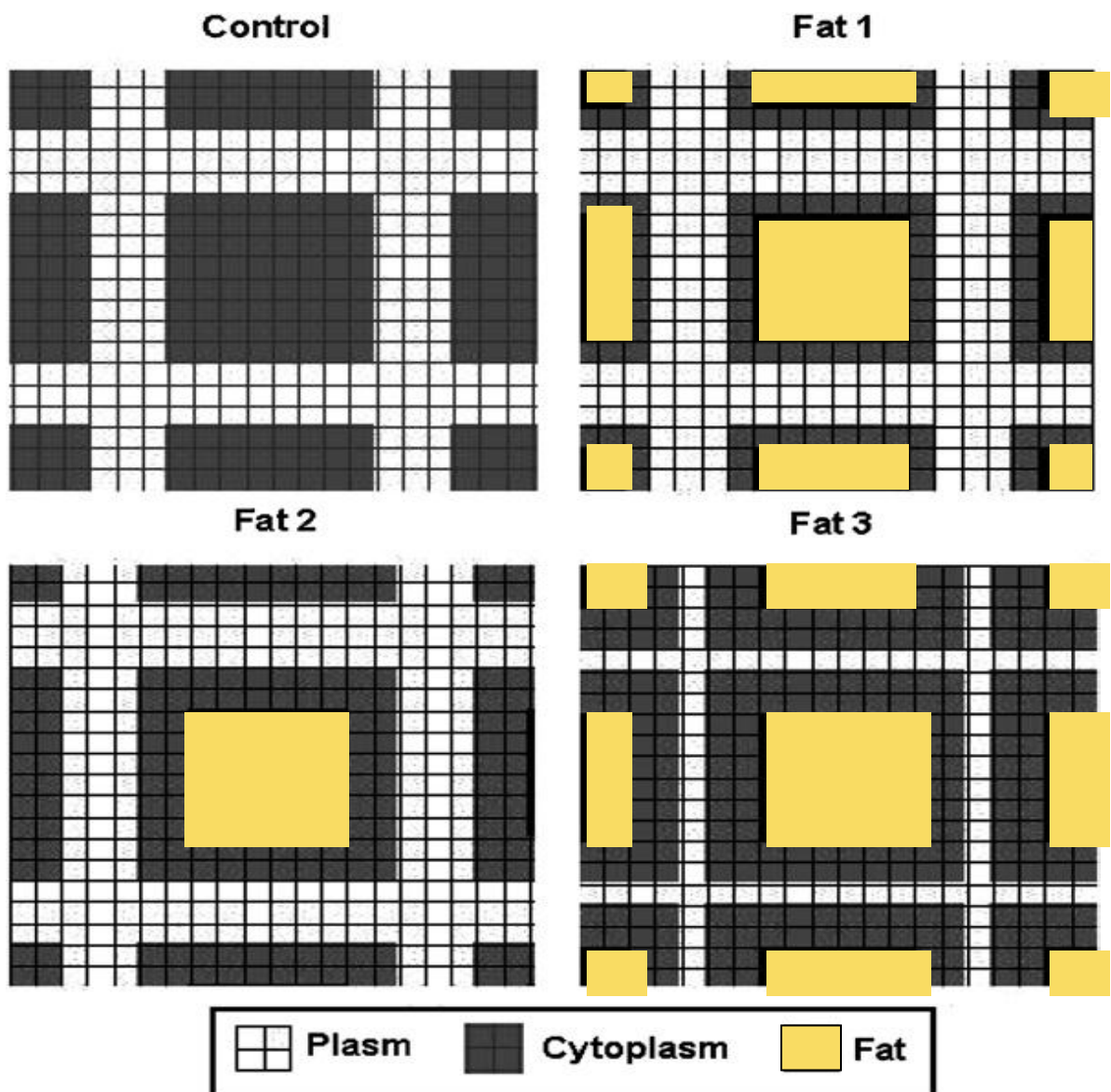


Fig. 24. Esquema que se utiliza para describir el efecto de la presencia de grasa en el seno de las células hepáticas (Parramon). .

5.1.4.2. Medición en diversos animales

Siempre se han preferido las mediciones de tejidos vivos⁷¹, frente a las mediciones ex vivo o in vitro. Para las mediciones in vitro los resultados son más valorables cuanto más fresco es el tejido, ya que la deshidratación y la temperatura influyen considerablemente en la cuantificación de los resultados.

Gabriel⁷⁷, en su extensa revisión publicada en 1996 nos muestra en gráficos, un análisis de un gran volumen de datos de BI de diferentes órganos en diferentes especies animales, tomados tanto in vivo como in vitro. Éste se muestra a continuación.

Recoge datos de animales vivíparos, pero en ningún caso de aves.

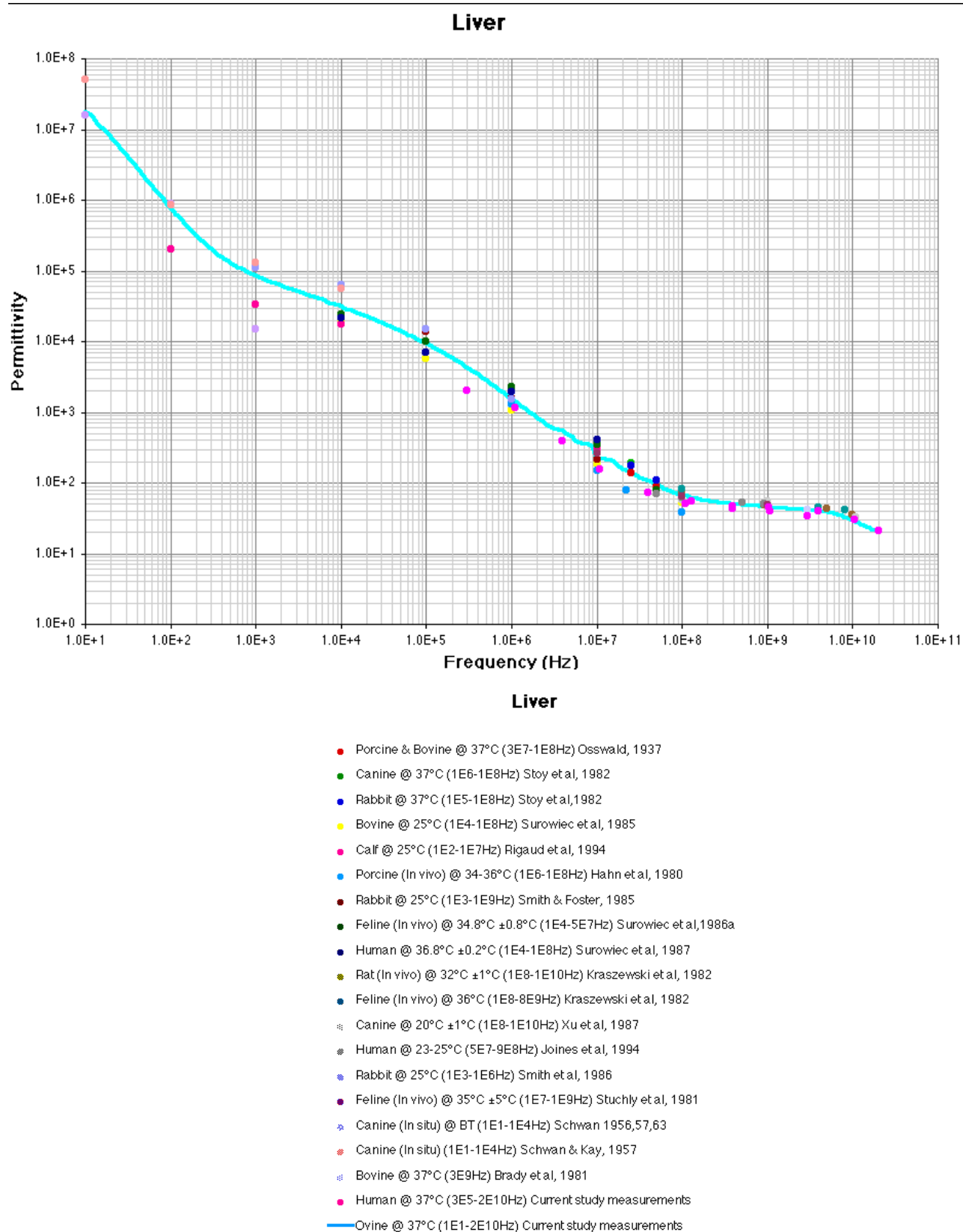


Fig. 25 Análisis de Gabriel, variación en la permitividad hepática entre especies.

Un interesante dato de este trabajo es que la BI de los diversos órganos es muy similar en las diferentes especies, los hígados de las diferentes especies presentan cifras muy parecidas de BI. Lo que aboca a una universalidad del comportamiento eléctrico de los tejidos con la misma ultraestructura.

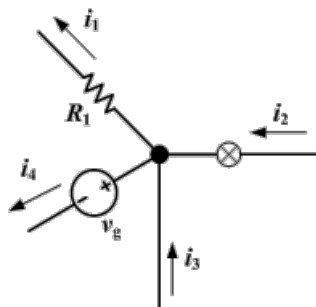
5.2. MEDICIÓN DE LA BIOIMPEDANCIA⁷⁸

Métodos de medida. Leyes de Kirchhoff

Habitualmente para obtener los valores de intensidad de corriente y potencial en cada punto de un circuito eléctrico utilizamos las leyes de Kirchhoff. Surgen de la aplicación de la ley de conservación de la energía.

→ 1ª Ley de los nudos o ley de corrientes de Kirchhoff

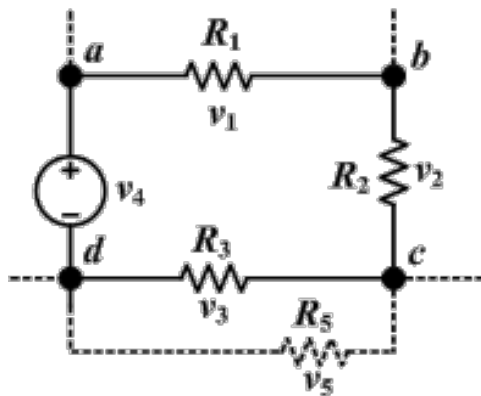
En todo nudo, donde la densidad de la carga no varíe en un instante de tiempo, la suma de corrientes entrantes es igual a la suma de corrientes salientes.



$$\sum_{k=1}^n I_k = I_1 + I_2 + I_3 \dots + I_n = 0$$

→ 2ª Ley de las "mallas"-ley de tensiones de Kirchhoff

En toda malla la suma de todas las caídas de tensión es igual a la suma de todas las subidas de tensión.



$$\sum_{k=1}^n V_k = V_1 + V_2 + V_3 \dots + V_n = 0$$

5.2.1. Métodos directos de medición de la BI

- Métodos de contacto:

Consiste en la aplicación de corriente a través de un electrodo y la medición de la diferencia de potencial entre dos puntos (es el más eficaz). El rango de frecuencias va de algunos Hz a varios MHz.

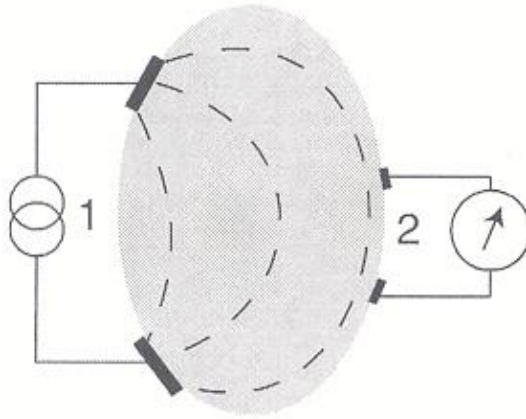


Fig. 26. Esquema de método de contacto.

Esquema de la medición de la BI a través del método de contacto, el circuito 1 introduce la corriente eléctrica al tejido y el circuito 2 mide la diferencia de potencial entre los 2 polos del circuito

5.2.2. Métodos indirectos

- Métodos sin contacto,

- Mediante aplicación de microondas a través de unas antenas y midiendo después el campo magnético en diferentes puntos.

- Mediante aplicación de campos magnéticos (corrientes de inducción), aplicación de campos magnéticos alternantes, la débil respuesta generada se mide mediante bobinas acopladoras.

- Tomografía de impedancia eléctrica, utilizando múltiples electrodos (típicamente 16) es posible obtener imágenes de una sección del cuerpo. Tras aplicar corrientes de baja frecuencia y realizar de mediciones eléctricas de superficie se infiere una imagen de la conductividad o permitividad de alguna parte del interior cuerpo.

5.3. ELECTRODOS.

La aplicación de electrodos para la medición de la BI es el método más fiable y se considera un método directo de medición. Se han diseñado multitud de electrodos, todos se basan en la medición de una diferencia de potencial entre dos puntos conocidos dentro de un campo eléctrico.

5.3.1. ELECTRODOS BIPOLARES

El método de medida con 2 electrodos, se basa en que hacemos circular una corriente constante (I_0) de intensidad mínima través de 2 electrodos, obteniendo en los mismos electrodos una diferencia de potencial.

El detector es conectado a través de los mismos electrodos y el voltaje presente (V_0) es una función de la BI de los electrodos y de los cambios debidos a los eventos fisiológicos.

$$Z = V_0 / I_0 = Z_{e1} + Z_{e2} + Z_x$$

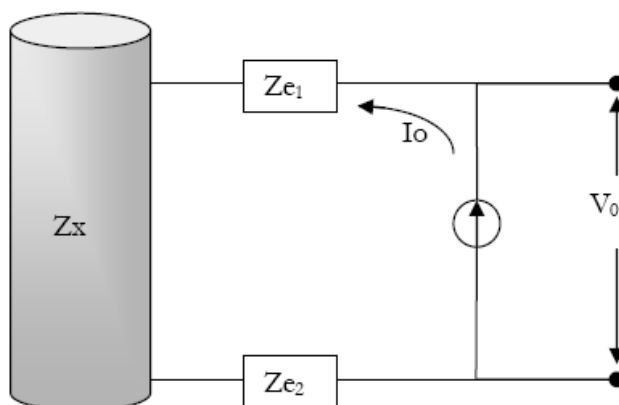


Fig. 27. Método de medición con 2 electrodos.

La imprecisión de este sistema se basa en que la interfase de contacto entre el propio electrodo y los tejidos así como la impedancia del propio electrodo (composición del electrodo, superficie de contacto, tipo de contacto) influye en las cifras de BI obtenidas.

Son escasos los trabajos científicos que realizan las mediciones de BI mediante exclusivamente 2 electrodos.⁷⁹, dado que sus resultados son más imprecisos.

5.3.2. ELECTRODOS TRIPOLARES

El método de medida con 3 electrodos, consiste en aplicar una corriente constante (I_0) a través de 2 electrodos, un electrodo inyector de corriente (Z_{e1}) y un electrodo de referencia (Z_{e2}). Esta corriente fluye a través del tejido.

El voltaje (V_0) se detecta entre un tercer electrodo (Z_{e3}) y un electrodo de referencia (Z_{e2}).

La diferencia de tensión medida (V_0) corresponde a la caída de tensión provocada por la corriente que se aplica a la impedancia de interés (Z_x) y el segundo electrodo (Z_{e2}).

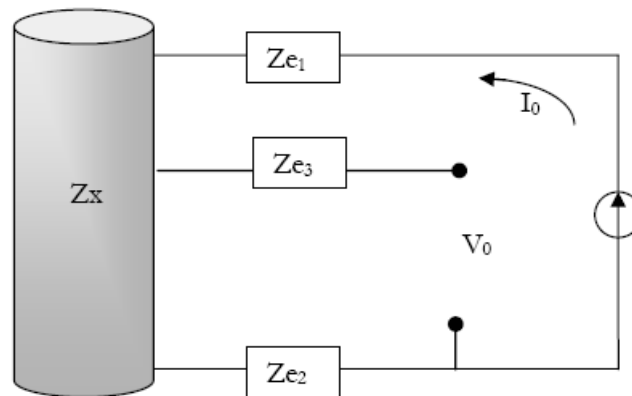


Fig. 28. Método de medición con 3 electrodos.

Es un método más preciso que el anterior pero está sujeto también a imprecisiones

5.3.3. ELECTRODOS TETRAPOLARES

→ La mayoría de los electrodos utilizados hasta ahora estaban formados por cuatro electrodos dispuestos en dos circuitos independientes que se aplicaban sobre los tejidos por medio de unas placas, de forma que se inyectaba corriente (I_0) en los electrodos externos y se medía la impedancia en los internos.

Con este método se consigue eliminar la impedancia de los electrodos, siempre y cuando los electrodos tengan una impedancia pequeña en comparación con la

impedancia de entrada del circuito utilizado para detectar la tensión (V_o) y no provoquen una saturación de los circuitos que inyectan la corriente (I_o).

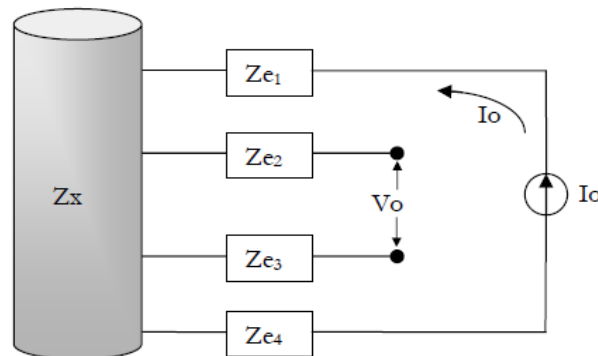


Fig. 29. Método de medida con 4 electrodos.

MODELOS DE ELECTRODOS TETRAPOLARES

Los electrodos tetrapolares son los más utilizados en las investigaciones de determinación de la BI tisular, se han desarrollado varios modelos, algunos de ellos muy originales, pero todos basados en los mismos principios

Electrodos en línea

Utiliza cuatro electrodos colocados en línea, los cuales son insertados en el tejido.

→ El electrodo de Parramón, Este electrodo ha sido utilizado para realizar estudios sobre medición de BI en hígado murino

Uno de los principales inconvenientes de este método es que produce 4 punciones en el parénquima.^{73,80}, y que la distancia entre los electrodos del circuito medidor era mínima.

También se ha investigado la influencia que tiene la profundidad de inserción de los electrodos en la determinación y es notable.

Otro de los inconvenientes de su pequeño tamaño es que se puede formarse con facilidad una fina película de sangre entre el tejido y el propio electrodo que puede enmascarar las mediciones.

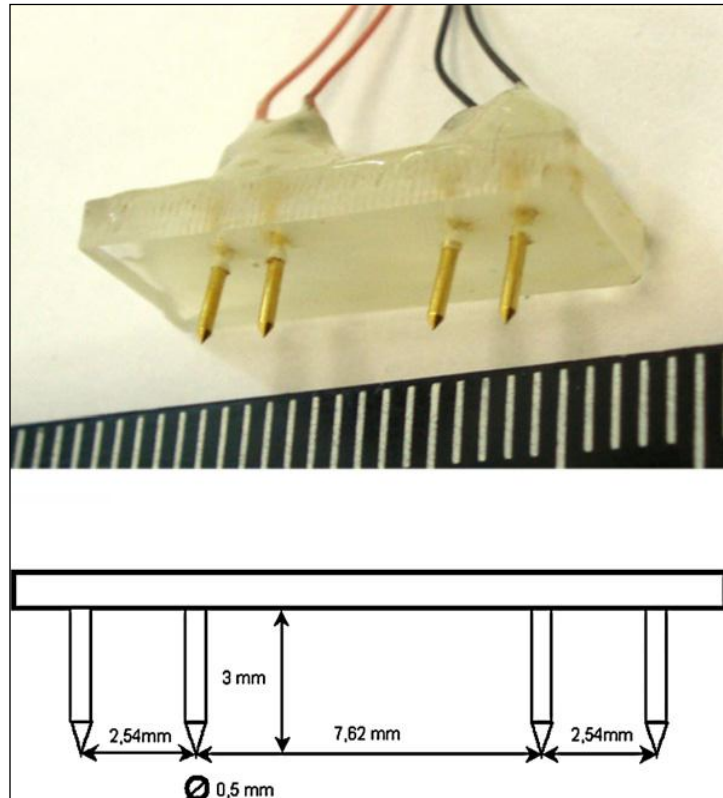


Fig. 30. Electrodo de Parramón

→Previamente otros autores ya habían utilizado este modelo para determinar las características eléctricas de los tumores hepáticos, como es el caso de Haemmerich⁸¹, que utiliza un dispositivo tetrapolar, con cuatro electrodos de 0,38 mm de diámetro y un espacio entre cada uno de 1,5 mm. Los 2 mm proximales fueron aislados para disminuir los errores causados por el fluido existente en la superficie.

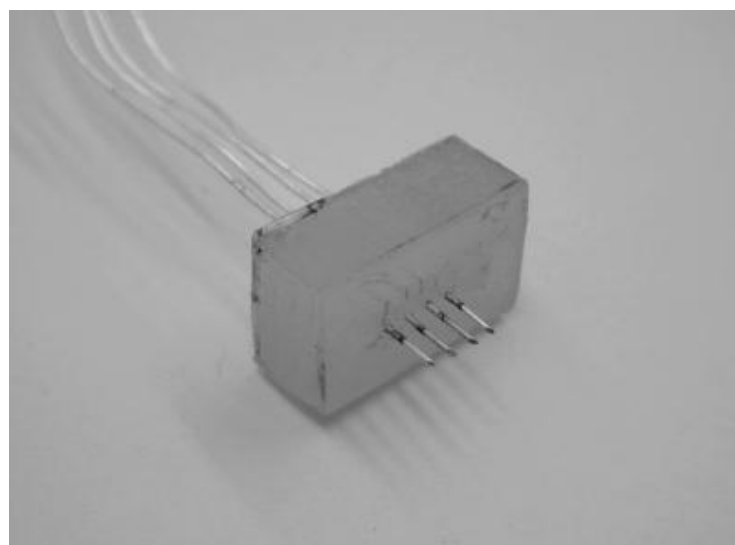


Fig. 31. Electrodo de Haemmerich

Electrodos tetrapolares en una punta

Se trata de electrodos situados en una aguja de punción

→ El diseño de Keshtkar⁸² es también un diseño de dos circuitos independientes uno de tensión y otro de medición (4 puntas de electrodo de oro que se insertaban a varias profundidades en el tejido, siendo la distancia efectiva entre los electrodos de unos mm).

Se trata de uno de los diseños más sofisticados hasta el momento, de tan sólo 2 mm de diámetro, precedido de los de Gonzales-Correa⁸³ y de los de Brown⁸⁴⁻⁸⁵, de 3,2 y 5,5 mm de diámetro respectivamente.

A su vez plantean un diseño exhaustivo, con complejo sistema de fabricación y diversos tests para verificar su hermeticidad, para evitar el filtrado de líquidos a su interior. Es un diseño creado específicamente para realizar mediciones en vejiga.

Tiene ventajas de ser una sola punción y los inconvenientes de realizar la medición de un fragmento de parénquima demasiado pequeño, el que queda entre los 4 puntos.

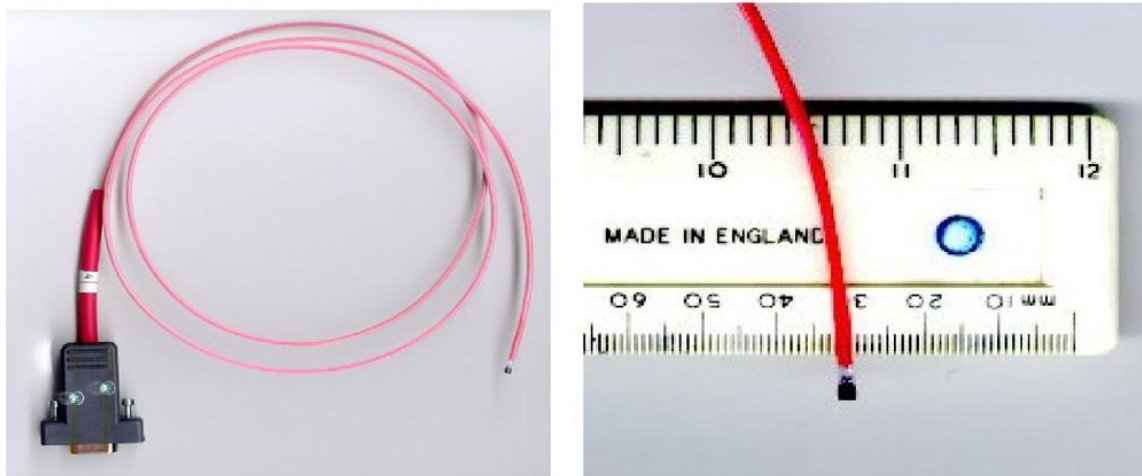


Fig.32 Diseño final de Keshtkar

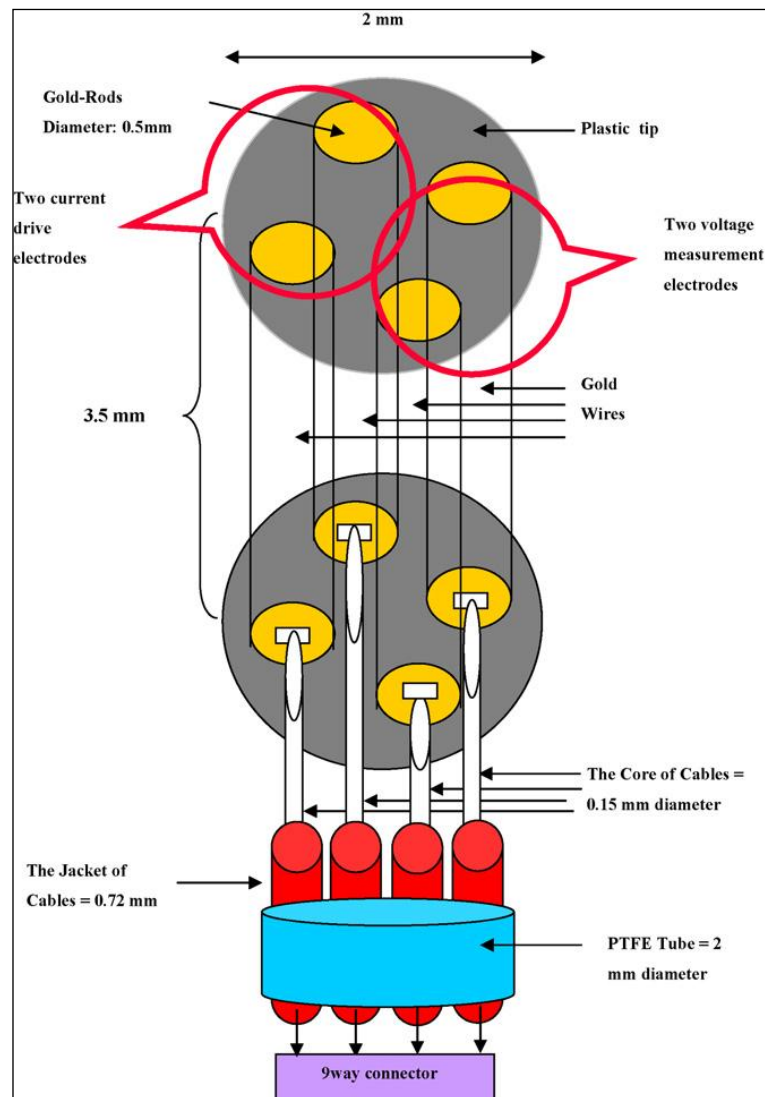


Fig. 33 Modelo de Keshtkar, diseño de electrodo en 1 aguja.

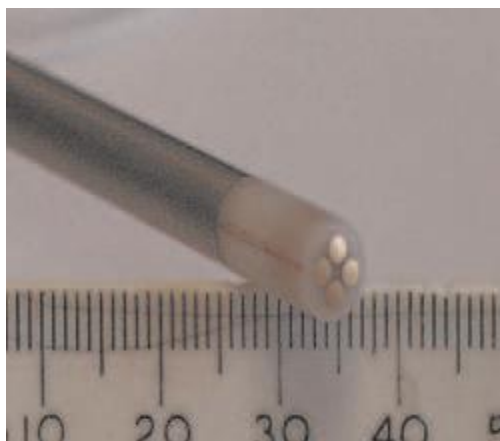


Fig. 34 Electrodo de Gonzales-Correa perfeccionado por Jones⁸⁶.

→ El diseño de Ivorra⁸¹ de cuatro electrodos insertados en una sola punta, es un diseño avanzado, ideado especialmente para realizar determinaciones en animales pequeños, de dimensiones prácticamente insuperables.

- 4 electrodos de $300\text{ }\mu\text{m} \times 300\text{ }\mu\text{m}$; 2 externos por los que se inyecta corriente alterna y 2 internos medidores.
- la distancia máxima entre los electrodos medidores es $< 4\text{mm}$
- la distancia entre un electrodo externo y un electrodo interno se calculó para que fuera superior al tamaño celular $600\text{ }\mu\text{m}$
- el diámetro del electrodo es de $0,5\text{ mm}$

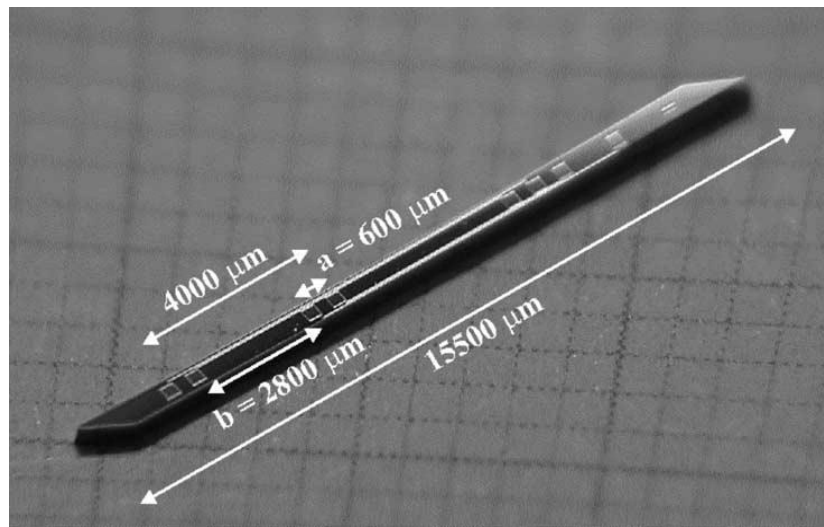


Fig. 35 Diseño de Ivorra.

Sonda circular

→ Otro novedoso diseño de Paulson que mide la impedancia de los órganos aplicando su sonda en la superficie del órgano, sin realizar punción.⁸⁷

Con la limitación de que la superficie debe ser plana.

Consigue abarcar mayor volumen de medición, a diferencia del previo.

Consta de 5 electrodos, 2 emisores de corriente y 2 medidores; un quinto electrodo para medir la impedancia de contacto del propio electrodo.

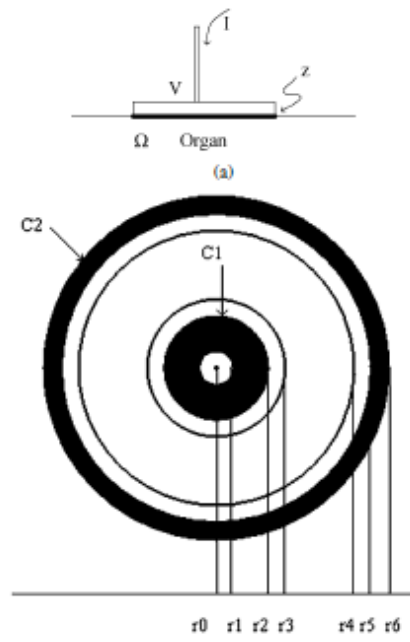


Fig. 36 Sonda circular de Paulson

6. ENSAYOS PREVIOS

6. ENSAYOS PREVIOS

6.1. DISEÑO DE ELECTRODOS

Dado que los electrodos encontrados en la literatura no satisfacían los requerimientos esenciales, fundamentalmente que tuviera dos circuitos independientes y que fuera capaz de analizar una porción significativa del parénquima hepático, resolvimos diseñar y construir un nuevo electrodo.

Planteamos la creación de 1 electrodo tetrapolar con los dos circuitos independientes a lo largo de una aguja de punción de pequeño calibre.

Antes de construir el electrodo definitivo llevamos a cabo diversas experiencias para poner a punto la técnica, calibrar los datos obtenidos y obtener los márgenes de las mediciones a las que nos enfrentábamos.

→ Inicialmente construimos un electrodo simplificado bipolar de 2 mm de diámetro conectado a aparatos de medición en monofrecuencia con la finalidad de poner a punto las mediciones y comprobar que estas eran homogéneas y entraban dentro del rango de mitad de los aparatos de medición.



Figs. 37. Diseño del primer electrodo bipolar de 3 mm



Figs. 38. Resultado del primer electrodo bipolar de 3 mm

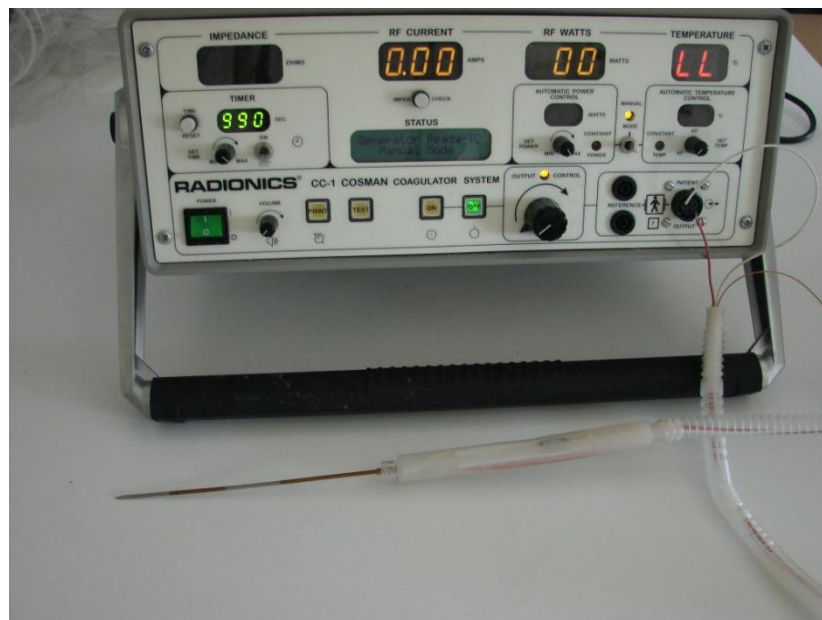


Fig. 39 Generador de radiofrecuencia utilizado para realizar las mediciones utilizando una sola frecuencia y electrodo grueso de 2 mm

Efectivamente la mediciones que realizamos con el electrodo bipolar tanto implantado por punción como aplicado a la superficie del hígado eran completamente homogéneas si se realizaban en las mismas condiciones (superficiales, o profundas, apoyado o insertado).

PRIMERAS MEDICIONES CON ELECTRODOS BIPOLARES Y GENERADOR MONOFRECUENCIA

→ Las primeras mediciones fueron realizadas en hígado porcino ex vivo con el electrodo bipolar de 2 mm y el generador monofrecuencia de 480 kHz.

Los resultados obtenidos son relativamente homogéneos desde 162 hasta 238 Ω , varían estos resultados según la localización del electrodo.

Número de medición	Localización	Impedancia Ω
1 ^a	Profunda	179-181
2 ^a	Profunda	192-193
3 ^a	Profunda	179-180
4 ^a	Profunda	179-180
5 ^a	Profunda (punción repetida en el mismo sitio que previa)	181-182
6 ^a	Superficial periférica	233-234
7 ^a	Superficial en otro lugar	>1000
8 ^a	Superficial profunda	195
9 ^a	Superficial superficial	237-238
10 ^a	Superficial superficial	230
11 ^a	Superficial superficial	237-238
12 ^a	Profunda	173
13 ^a	Profunda	176-178
14 ^a	Profunda	162

Tabla 5. Primeras mediciones realizadas en hígado porcino ex vivo con electrodo bipolar de 2 mm y generador multifrecuencia

Una vez obtenidos los datos de BI de hígados porcinos ex vivo necesitábamos conocer cuál era la cifra máxima de BI que podíamos medir con nuestros aparatos, y para ello realizamos mediciones en modelos de esteatosis del 100% ex vivo, como es el hígado de pato de uso comercial. Esta experiencias nos permitirían conocer las cifras máximas de BI con las que nos enfrentaríamos. Las siguientes experiencias se realizaron en hígado graso de pato ex vivo, con el electrodo bipolar de 2 mm y el generador monofrecuencia de 480 kHz.

El hígado graso de pato contiene una altísima cantidad de grasa en su parénquima que ofrece resistencia al paso de la corriente eléctrica. Esto lo vimos reflejado en nuestras mediciones con resultados que varían desde 728 a 885 Ω .

Número de medición	Localización	Impedancia Ω
1ª parénquima	Centrado profunda	868
2ª parénquima	Centrado profunda	832
3ª parénquima	Centrado profunda	822
4ª parénquima	Centrado profunda	830
5ª parénquima	Superficial	820
6ª parénquima	Superficial	785
7ª parénquima	Superficial	800
8ª parénquima	Canal puncionando 2 veces	885
9ª parénquima	2ª vez (Aumento de Tª?)	833
10ª parénquima	Superficial sin cápsula	916
11ª Glisson	Apoyado	785
12ª Glisson	Apoyado	764
13ª Glisson	Apoyado	752
14ª Glisson	Apoyado	728
15ª Glisson	Apoyado	790
16ª calentamiento basal	Profundo	798
17ª calentamiento 1 min	Profundo	790
18ª calentamiento 2 min	Profundo	784
19ª calentamiento 3 min	Profundo	779
20ª calentamiento 4 min	Profundo	773
21ª calentamiento 5 min	Profundo	770

Tabla 6. Primeras mediciones realizadas en hígado de pato ex vivo con electrodo bipolar de 2 mm y generador multifrecuencia

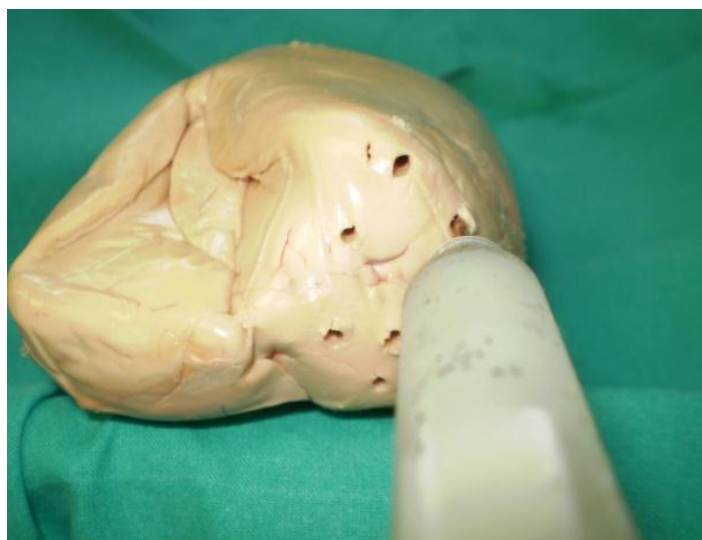


Fig. 40 Medición con electrodo bipolar en hígado graso de pato.

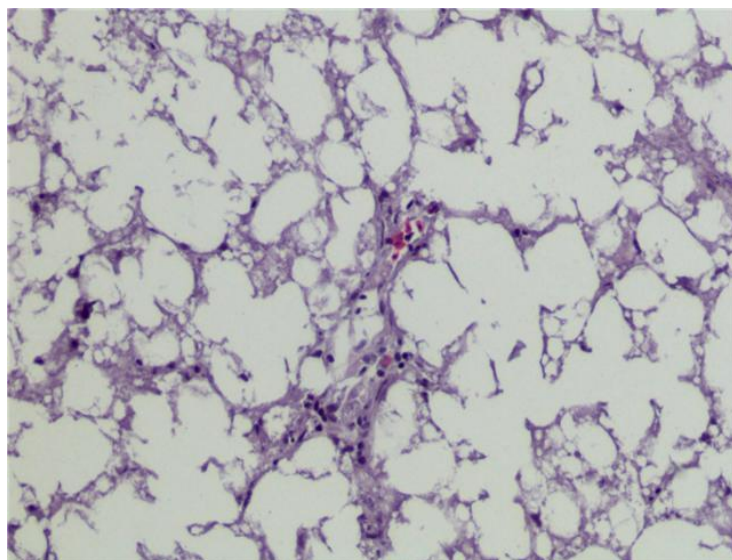


Fig. 41 Corte histológico de un hígado de pato de consumo humano, se aprecia una esteatosis del 100%

Los resultados obtenidos fueron también muy homogéneos, lo que nos permitiría extrapolar los datos incluso para esteatosis máximas.

El siguiente paso fue decidir cuál era la distancia óptima entre los polos del electrodo, la distancia entre los polos del circuito medidor estaría en relación con la cantidad de tejido que queríamos medir, ya que la conducción eléctrica disminuye de forma exponencial cuando nos alejamos de los polos.

Nuestro electrodo debería tener una distancia mínima capaz de analizar la BI de una porción considerable de tejido, del orden de cm en lugar de mm pero sin comprometer la fiabilidad de la medición al existir vías de conducción más rápidas (por ejemplo los vasos sanguíneos) o incluso obstáculos a la conducción (por ejemplo una sección insuficiente de parénquima hepático) que enmascaran los resultados.

Para analizar estos términos realizamos la siguiente experiencia: Durante el proceso de medición, una vez insertado el electrodo, insertamos de forma paralela al electrodo una vía de conducción rápida (en este caso una aguja de acero, abbocath) a distancia variables del eje del electrodo, con la finalidad de descubrir a que distancia del eje del electrodo se hacía patente la vía de conducción rápida (que se mostraría por una disminución de las cifras de BI medidas).

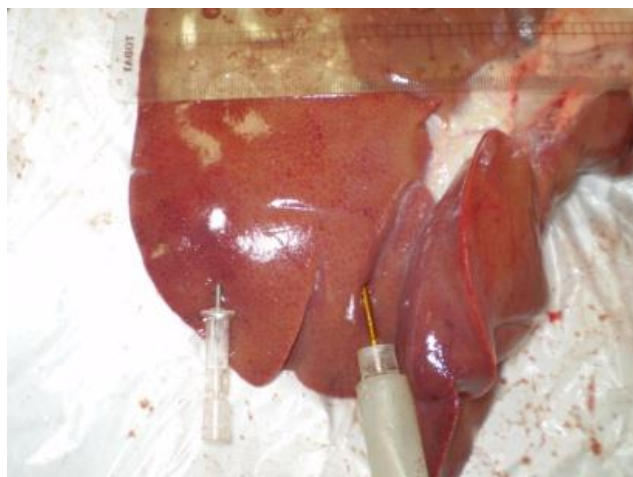


Fig. 42 Elemento conductor a 5 cm, ya no influye en la medición de la BI.

Con estas experiencias comprobamos que la distancia a la que se puede medir la BI por medio del electrodo era aproximadamente la mitad de distancia entre los polos, esto nos permitió poder diseñar el electrodo definitivo.

Todas estas experiencias se habían realizado en hígado ex vivo, naturalmente realizamos nuevas experiencias preliminares en hígados de cerdo in vivo.

Utilizamos cerdos con un hígado de volumen considerablemente menor que los utilizados ex vivo, los resultados fueron también muy homogéneos

Número de medición	Localización	Impedancia Ω
1ª parénquima	Profunda, lóbulo 3	117
2ª parénquima	Profunda, lóbulo 2, cerca de grandes vasos	130
3ª parénquima	Profunda, lóbulo 3	138
4ª Glisson	Superficial lóbulo 3	138
5ª Glisson	Superficial lóbulo 2	130
6ª parénquima	Profundo lóbulo 1 cerca del hilio	123
7ª Glisson	Superficial lóbulo 1	130

Tabla 7. Primeras mediciones realizadas en hígado de cerdo in vivo con electrodo bipolar de 2 mm y generador monofrecuencia

Todas las mediciones obtenidas nos dieron resultados muy homogéneos y próximos a 130 Ω , cifras mucho menores que los datos ex vivo debido a que la vascularización del hígado y la temperatura a la que se realiza la medición favorecen la conducción.

Una vez determinada la distancia a la que deben de situarse los polos realizamos el diseño definitivo del electrodo tetrapolar, cuyo esquema exponemos a continuación.

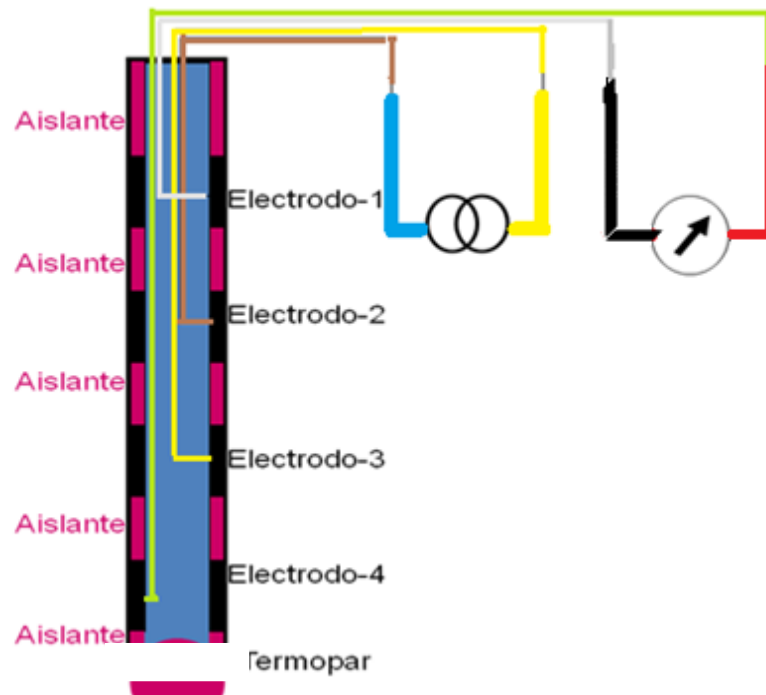


Fig. 43 Disposición del electrodo tetrapolar de nuevo diseño

Las siguientes experiencias se llevaron a cabo con el medidor multifrecuencia SFB-7 (capaz de realizar mediciones de BI en un rango de frecuencias muy amplio).



Fig. 44 Medidor de impedancia SFB7

En primer lugar repetimos las experiencias realizadas en pequeños animales con el electrodo tipo peine de Parramón.

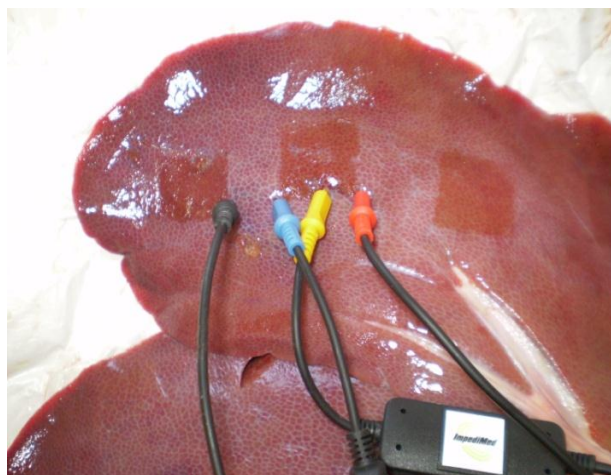


Fig. 45 Disposición de electrodos tipo peine

Vista de los electrodos insertados en el parénquima hepático a una corta distancia, equivalentes al electrodo tipo peine de Parramón.

Informe del análisis de impedancia

Nombre del archivo de origen C:\Documents and Settings\Mª Azucena Gonzalo\Escritorio\Datos tesis\casa_def-0274.mfu
 Comentario SFB7 Biolmp v1.55 #12C090007 casa_def-0274.mfu
 Fecha de adquisición 20-Sep-2009 02:18:57 PM
 Imprimir fecha 21/09/2009 21:57:43

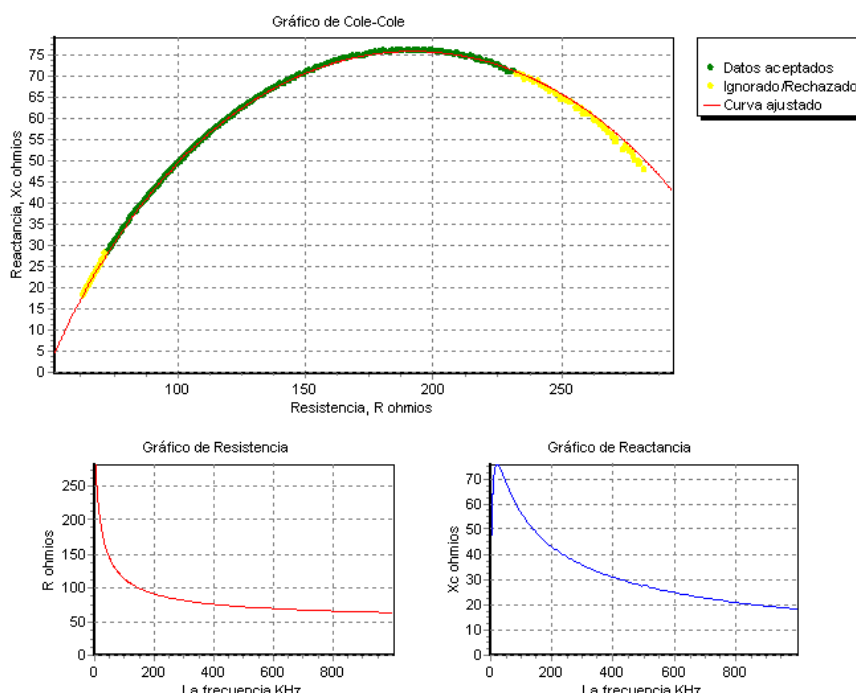


Fig. 46 Resultados de la determinación con los 4 electrodos originales del aparato multifrecuencia, con la disposición peine.

Los resultados fueron satisfactorios Frecuencia de 451,92 kHz \rightarrow Z (impedancia) 78,96 Ω . Con una morfología de las gráficas previsible. Con esta experiencia habíamos repetido los resultados obtenido por otros autores, es decir la medición tetrapolar de una pequeña porción de parénquima hepático.

La siguiente experiencia sería la medición tetrapolar de una porción más representativa de parénquima.

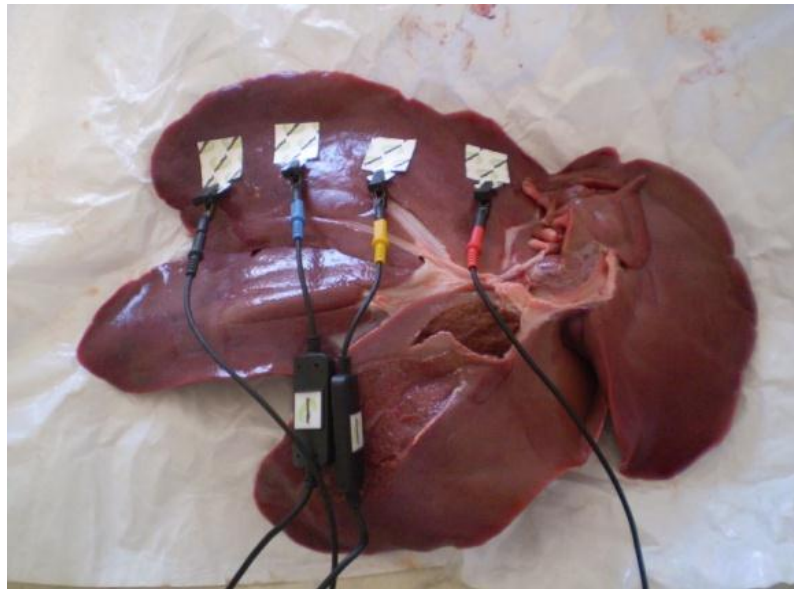


Fig. 47 Disposición cuadripolar de los electrodos a cierta distancia

Los resultados obtenidos mostraron una mayor cifra de BI, comparado con la experiencia anterior, como era lógico ya que la corriente debía superar una mayor porción de parénquima para alcanzar el polo opuesto

A 480 kHz con este modelo, obtenemos cifras de BI superiores.

Informe del análisis de impedancia

Nombre del archivo de origen C:\Documents and Settings\Mª Azucena Gonzalo\Escritorio\Datos tesis\casa_def0271.mfu
Comentario SFB7 Biolmp v1.55 #12C090007 casa_def0271.mfu
Fecha de adquisición 20-Sep-2009 02:14:27 PM
Imprimir fecha 21/09/2009 21:08:41

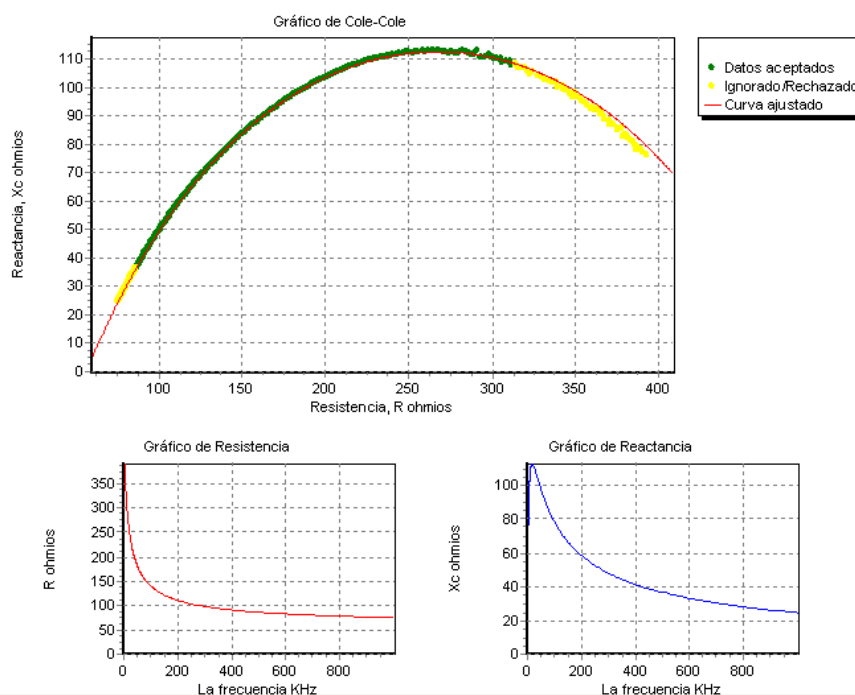


Fig. 48 Resultados de la determinación con los 4 electrodos originales del aparato multifrecuencia, con la disposición a distancia mayor

Estas experiencias con los electrodos adheridos a la superficie de un modelo de hígado porcino ex vivo se repitieron utilizando el electrodo definitivo tetrapolar apoyado en la superficie hepática.

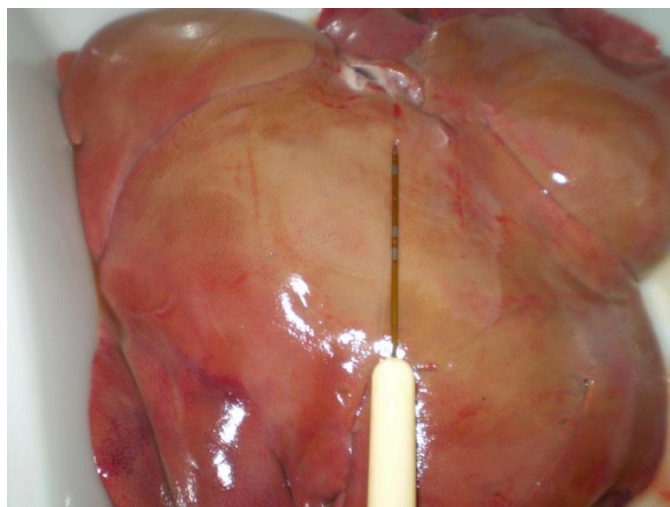


Fig. 49 Medición con elelctrodo tetrapolar apoyado en la superficie hepática

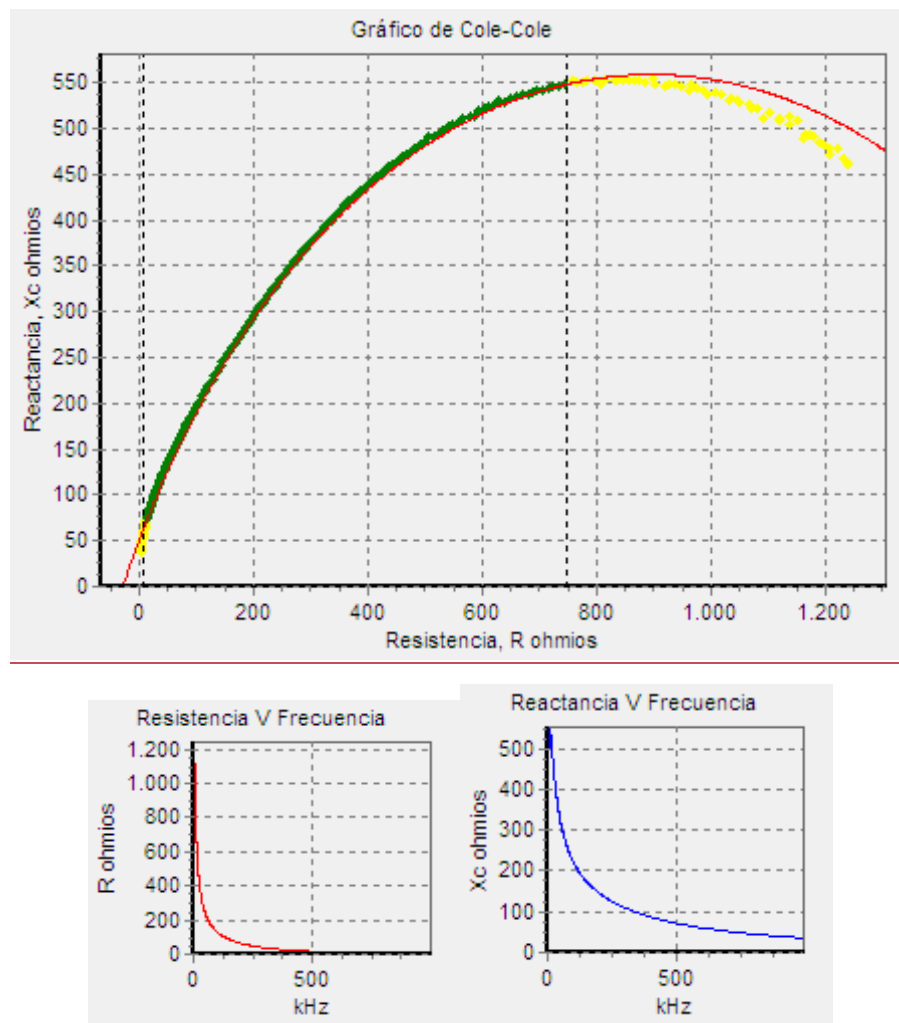


Fig. 50 Resultados obtenidos con el electrodo tetrapolar apoyado sobre la superficie hepática

Estos resultados se compararon con los obtenidos mediante la inserción del electrodo definitivo en el seno del parénquima hepático

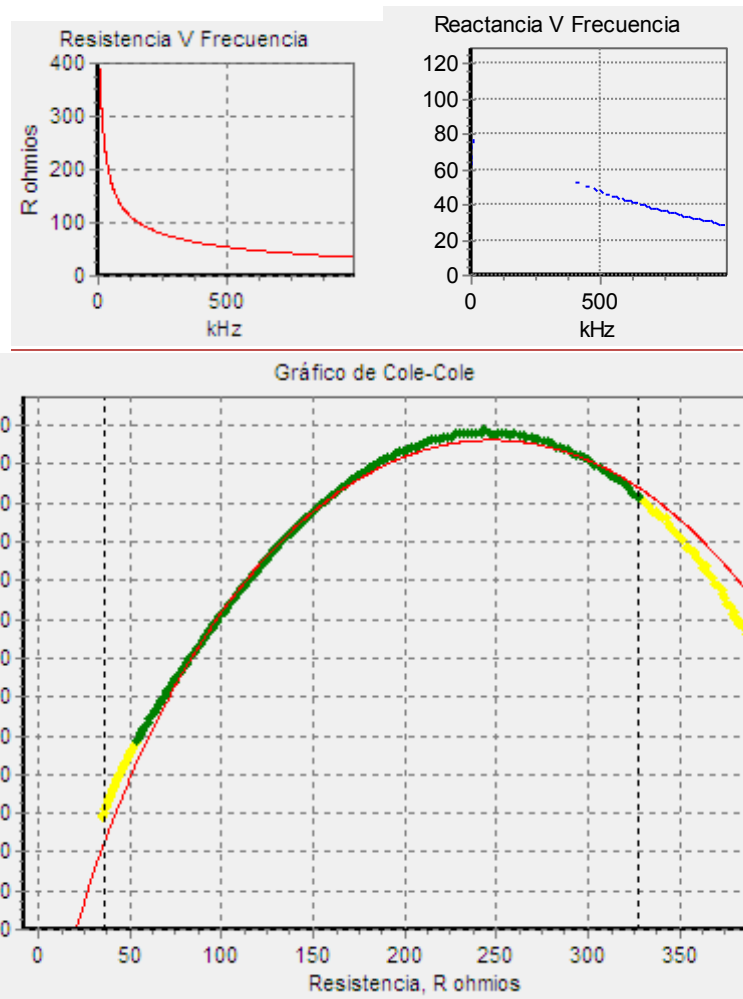


Fig. 51 Medición y gráficas obtenidas con generador multifrecuencia y electrodo tetrapolar insertado en el parénquima hepático de cerdo

Obteniendo una resistencia menor con el electrodo insertado que con el apoyado, como era de esperar, ya que la sección de tejido hepático que debe atravesar la corriente es menor en el electrodo apoyado.

En el seno el parénquima la resistencia es menor que en la superficie.

HÍGADO DE CERDO SUPERFICIAL

Frec	Z	Fase	R	Xc	Estado	Fase	R	Xc
15.01	779.2	41.3	585.5	514.1	Ac	41.0	587.7	511.7
25.33	594.2	47.6	400.8	438.7	Ac	47.2	403.9	435.8
50.01	399.4	54.5	231.7	325.4	Ac	53.7	236.2	322.1
75.25	310.0	58.5	162.2	264.2	Ac	57.2	167.8	260.7
101.1	256.3	61.5	122.4	225.2	Ac	59.8	128.8	221.6

HÍGADO DE CERDO PROFUNDO

Frec	Z	Fase	R	Xc	Estado	Fase	R	Xc
15.01	319.1	23.0	293.7	124.7	Ac	22.4	294.9	121.8
25.33	274.1	28.7	240.5	131.4	Ac	27.7	242.6	127.5
50.01	212.6	35.3	173.5	122.9	Ac	33.5	177.4	117.2
75.25	179.0	38.6	139.8	111.8	Ac	35.9	145.0	104.9
101.1	157.2	40.9	118.9	102.9	Ac	37.2	125.3	95.0

Una vez superadas las experiencias con el electrodo bipolar y las experiencias con el electrodo tetrapolar ex vivo realizamos mediciones del hígado in vivo con el electrodo tetrapolar.

6.2. ENSAYOS EN ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN CON ELECTRODO TETRAPOLAR Y ADENDUM.

MEDICIONES CON ELECTRODOS TETRAPOLARES Y GENERADOR MULTIFRECUENCIA IN VIVO

Se trataba de cerdos de unos 40 kg de peso a los que se les practicó una laparotomía media amplia para exponer el hígado. Los animales estaban bajo anestesia general estos experimentos preliminares se parecían mucho a los definitivos.

MEDICIONES CON EL ELECTRODO INSERTADO EN EL PARÉNQUIMA HEPÁTICO

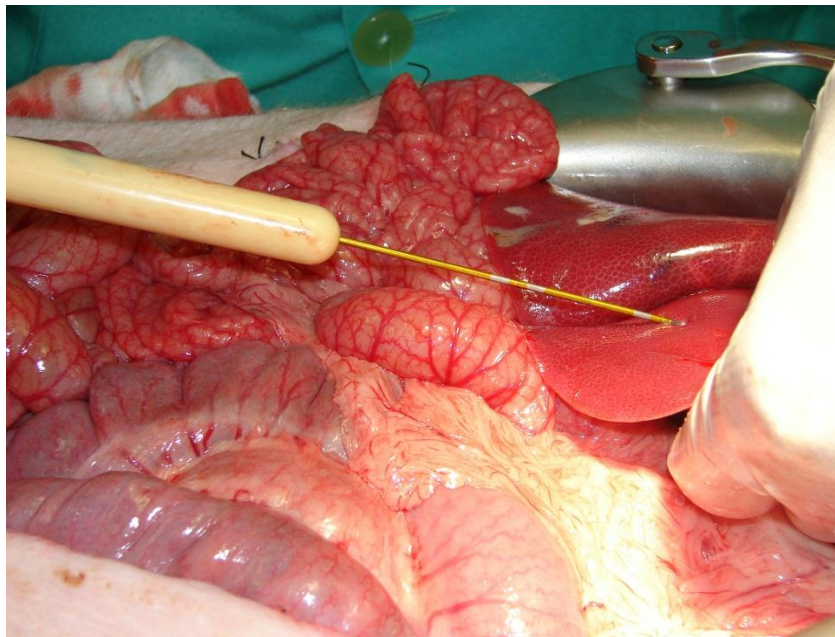
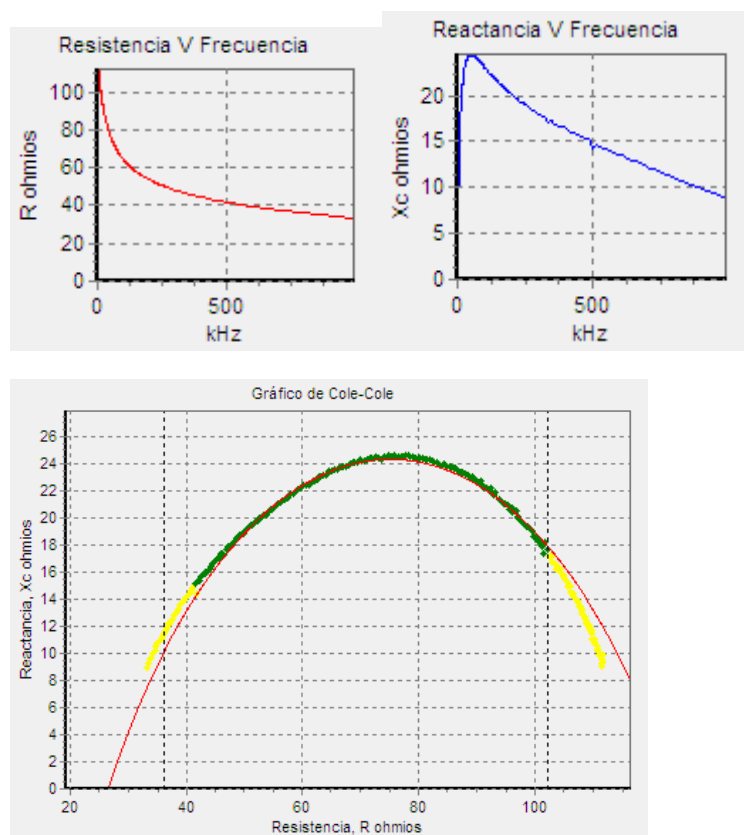


Fig. 52 Inserción del electrodo en el parénquima hepático

➔ Primera medición inserción superficial

Se obtienen las siguientes gráficas.



En el posterior análisis por frecuencias.

Datos medidos			Datos corregidos de Td					
Frec	Z	Fase	R	Xc	Estado	Fase	R	Xc
3.084	112.1	4.7	111.7	9.1	I	4.6	111.7	8.9
4.028	111.1	5.6	110.6	10.9	I	5.5	110.6	10.7
5.067	109.9	6.6	109.2	12.6	I	6.4	109.2	12.3
6.074	108.6	7.4	107.6	14.0	I	7.2	107.7	13.7
7.113	107.4	8.2	106.3	15.2	I	7.9	106.4	14.8
8.151	106.0	8.9	104.7	16.4	I	8.6	104.8	15.9
9.127	105.0	9.3	103.6	17.0	I	9.0	103.7	16.4
10.23	104.0	10.0	102.4	18.1	Ac	9.7	102.5	17.5
15.01	99.4	12.1	97.2	20.8	Ac	11.6	97.4	19.9
25.33	92.0	15.2	88.8	24.1	Ac	14.4	89.1	22.9
50.01	80.6	19.2	76.1	26.5	Ac	17.6	76.8	24.4
75.25	73.3	21.5	68.2	26.9	Ac	19.1	69.3	24.0
101.1	68.2	23.0	62.8	26.6	Ac	19.7	64.2	23.0
152.1	61.6	25.2	55.8	26.2	Ac	20.2	57.8	21.3
204.2	57.1	27.1	50.8	26.0	Ac	20.5	53.5	20.0
300.4	51.5	30.2	44.5	25.9	Ac	20.5	48.2	18.0
403.5	47.3	33.2	39.6	25.9	Ac	20.2	44.4	16.3
506.2	44.3	35.1	36.3	25.5	I	18.8	41.9	14.3
711.5	39.4	40.9	29.8	25.8	I	17.9	37.4	12.1
913.2	35.9	45.4	25.2	25.5	I	15.9	34.5	9.8
1000	34.6	47.0	23.6	25.3	I	14.7	33.5	8.8

La repetición de las mediciones en varias ocasiones ofreció resultados similares.

Por último realizamos mediciones con el electrodo apoyado en la superficie, obteniendo resultados muy similares entre ellos (de las 3 mediciones que realizamos los resultados fueron prácticamente idénticos).

➔ Medición con electrodo apoyado en superficie

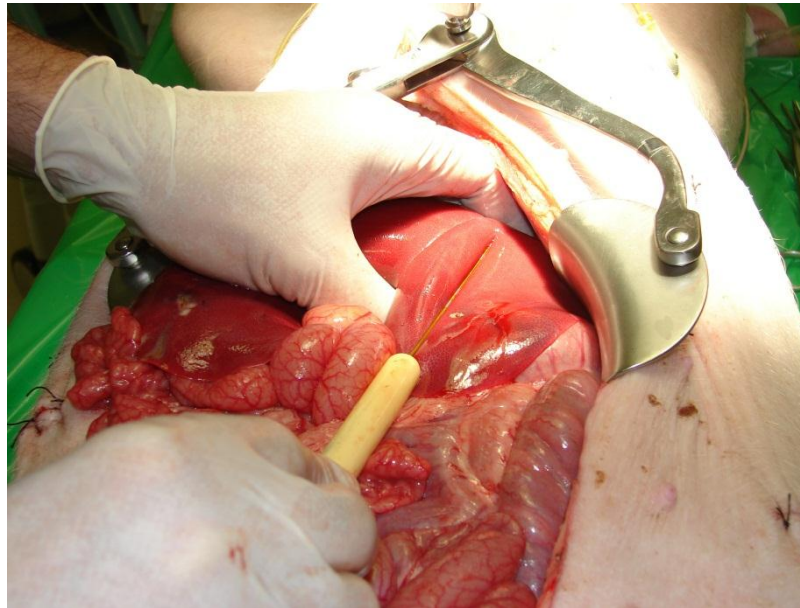
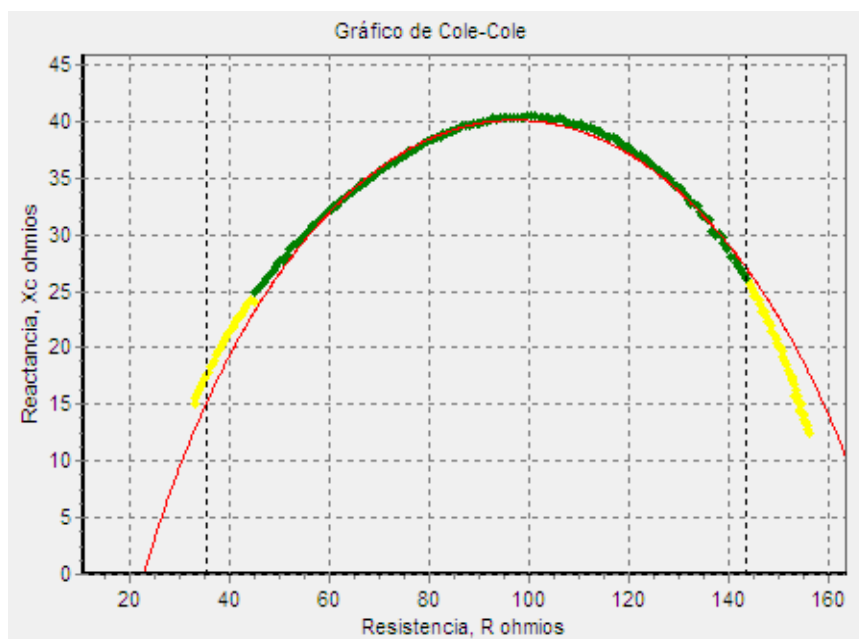
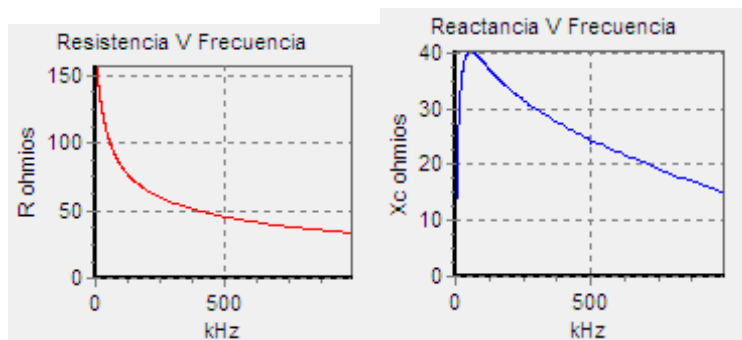


Fig. 53 Electrodo apoyado en el parénquima hepático

Los resultados del electrodo apoyado en superficie ofrecieron mayor resistencia que el introducido en el seno del parénquima



Datos medidos			Datos corregidos de Td						
Frec	Z	Fase	R	Xc	Estado	Fase	R	Xc	
3.084	157.0	4.6	156.5	12.6	I	4.5	156.6	12.3	
4.028	155.7	5.6	154.9	15.3	I	5.5	154.9	14.9	
5.067	154.1	6.7	153.1	17.9	I	6.5	153.1	17.4	
6.074	152.3	7.6	150.9	20.1	I	7.4	151.0	19.5	
7.113	150.5	8.4	148.9	22.0	I	8.2	149.0	21.3	
8.151	149.1	9.3	147.1	24.0	I	9.0	147.3	23.3	
9.127	147.6	9.9	145.5	25.3	I	9.5	145.6	24.5	
10.23	146.2	10.6	143.6	27.0	Ac	10.3	143.8	26.0	
15.01	140.3	13.4	136.5	32.5	Ac	12.8	136.8	31.2	
25.33	129.0	17.4	123.1	38.5	Ac	16.4	123.7	36.5	
50.01	111.3	23.0	102.5	43.5	Ac	21.2	103.8	40.2	
75.25	99.5	26.4	89.2	44.2	Ac	23.6	91.2	39.8	
101.1	91.1	28.7	79.9	43.8	Ac	25.0	82.6	38.5	
152.1	80.1	32.2	67.8	42.7	Ac	26.6	71.6	35.8	
204.2	72.6	34.9	59.5	41.6	Ac	27.4	64.5	33.4	
300.4	63.3	39.3	49.0	40.1	Ac	28.2	55.8	29.9	
403.5	56.5	43.4	41.1	38.8	Ac	28.5	49.7	27.0	
506.2	51.3	46.4	35.3	37.1	I	27.8	45.4	23.9	
711.5	43.9	53.4	26.2	35.3	I	27.2	39.1	20.1	
913.2	38.5	58.9	19.9	33.0	I	25.2	34.8	16.4	
1000	36.6	60.8	17.9	31.9	I	23.9	33.4	14.8	

ADENDUM

Como colofón de nuestros estudios preliminares realizamos una medición de BI en injertos de hígado provenientes de donantes no válidos que fueron extraídos y desechados. Utilizamos 2 injertos hepáticos desechados, realizamos mediciones tanto en la superficie como con el electrodo insertado

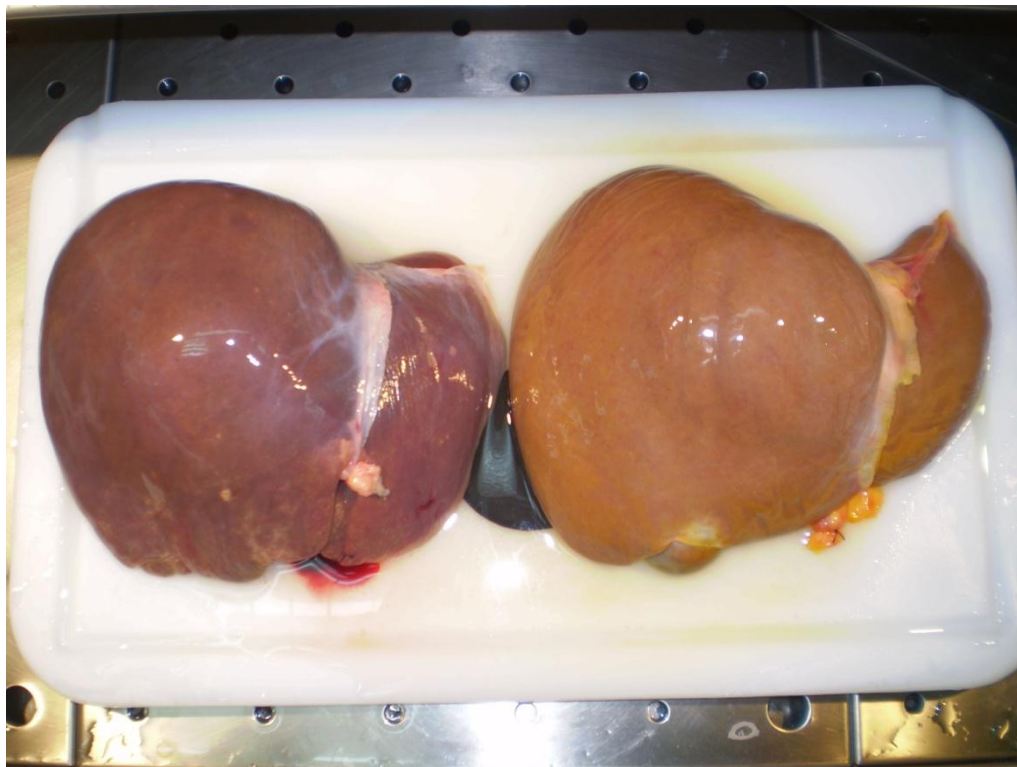


Fig. 54 Dos hígados obtenidos de extracciones multiorgánicas, descartados por esteatosis hepática: izquierdo microscópica, derecho macroscópica. Las determinaciones se realizaron en estos hígados

HÍGADO HUMANO N° 1

-Sonda tetrapolar de 1,5 mm con detector multifrecuencia		Apoyado en superficie			1 cm de profundidad		
		LLD 542 543	LSD 548 549	LI 550 551	LLD 556 557	LSD 558 559	LI 564 565
	5kHz	192,56 188,56	165,26 165,42	232,86 231,49	125,30 125,26	126,92 6,79	172,80 172,89
	10kHz	184,61 180,57	160,11 160,10	220,69 219,54	120,58 120,86	101,34 13,27	164,38 164,47
	50kHz	145,80 143,20	131,29 131,21	159,24 158,77	102,30 102,34	20,68 10,28	128,34 128,53
	65kHz	134,40 131,40	122,18 121,84	143,08 143,04	96,91 96,94	8,24 84,81	119,45 119,55
	75kHz	127,83 124,78	116,59 116,31	133,95 133,92	93,67 93,70	2,05 96,70	114,29 114,34
	90kHz	118,45 115,70	108,94 108,57	122,01 122,06	89,25 89,25	2,12 92,15	107,44 107,48
	100kHz	113,34 111	104,33 104,19	115,07 113,98	86,54 86,55	0,56 3,48	103,34 103,38
	500kHz	30,27 28,24	29,38 29,43	23,78 24,11	41,82 41,73	12,56 7,56	46,15 46,22
	Curva	544 545	546 547	552 553	554 555	560 561	562 563

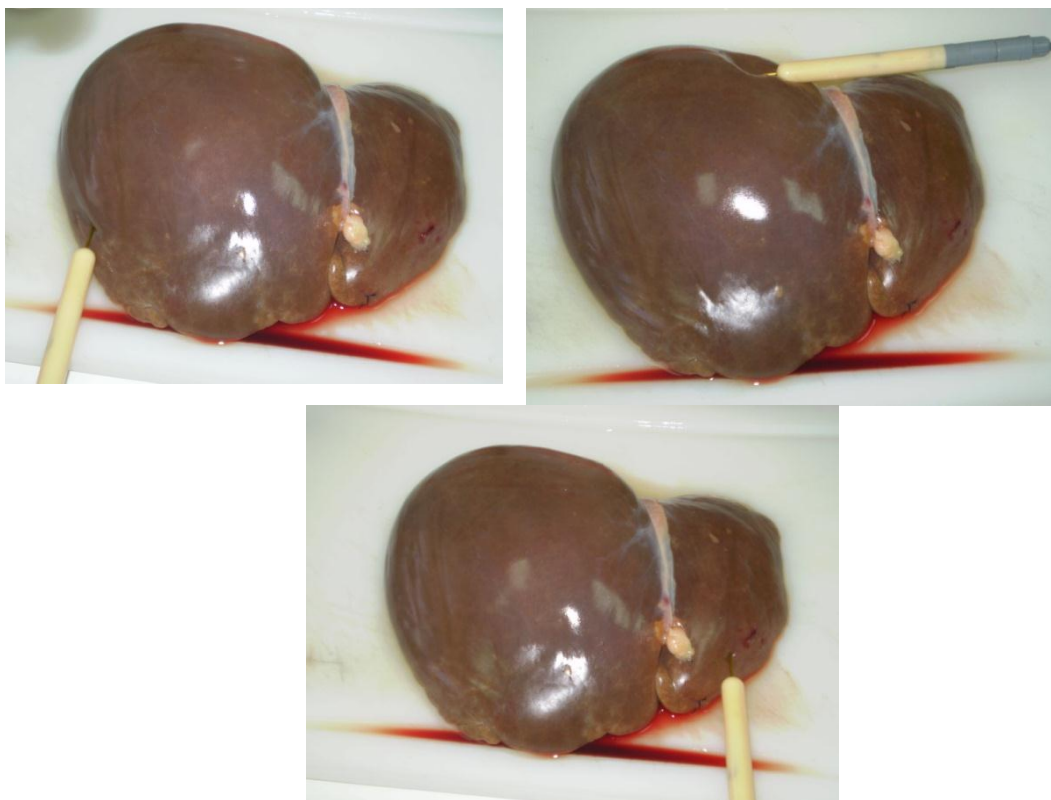


Fig. 55 Mediciones con electrodo tetrapolar en las 3 localizaciones previstas, con el electrodo insertado .

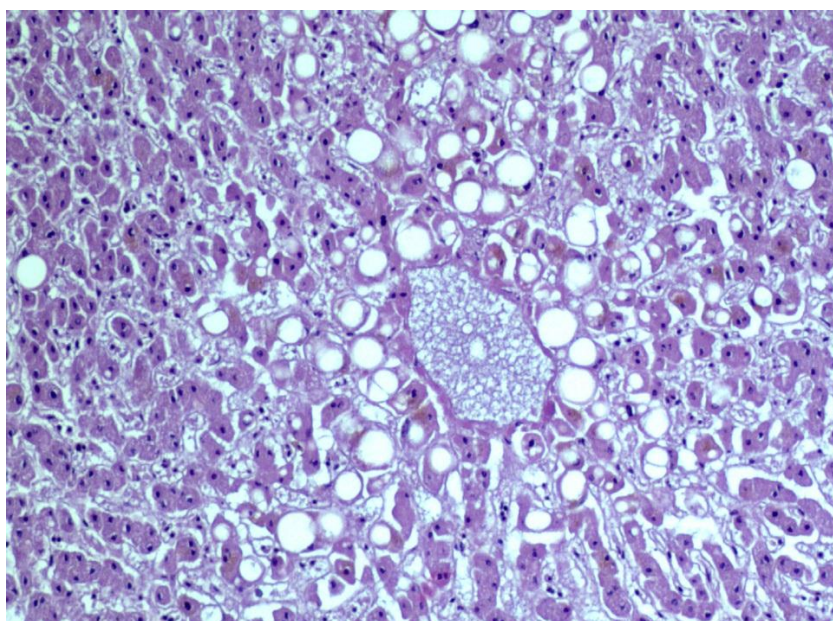


Fig. 56. Microscopía del hígado número 1, con esteatosis centrolobulillar cuantificada del 35 %.

HÍGADO HUMANO N° 2

Donante cadáver del 23/04/2010. Varón de 69 años de edad. Presentaba esteatosis macroscópica que obligó a desechar el injerto.

-Sonda tetrapolar de 1,5 mm con detector multifrecuencia		Apoyado en superficie			1 cm de profundidad		
		LLD	LSD	LI	LLD	LSD	LI
		566 567	572 573	574 575	580 581	584 585	590 591
	5kHz	209,92	208,84	191,04	110,70	145,58	123,67
		207,92	210,84	191,46	110,58	145,19	123,66
	10kHz	200,50	199,06	184,18	106,79	139,18	120,29
		198,73	153,72	184,54	106,85	138,77	120,27
	50kHz	152,30	152,63	145,23	92,77	113,35	107,97
		151,36	153,72	145,16	92,74	113,08	107,99
	65kHz	132,79	117,87	134,09	88,82	106,87	104,09
		138,27	141,32	134,19	88,75	106,64	104,04
	75kHz	131,22	122,71	127,62	86,44	103,21	101,69
		130,69	133,97	127,75	86,37	102,99	101,65
	90kHz	121,15	124,02	119,02	83,26	98,32	98,32
		120,66	123,49	119,13	83,18	98,15	98,27
	100kHz	115,31	117,87	114,15	81,27	95,50	96,23
		114,92	118,11	113,86	81,19	95,32	96,20
	500kHz	27,92	25,38	33,29	45,94	48,52	53,31
		27,92	25,35	32,85	45,89	48,15	53,07
	Curva	568	570	576	578	586	588
		569	571	577	579	587	589

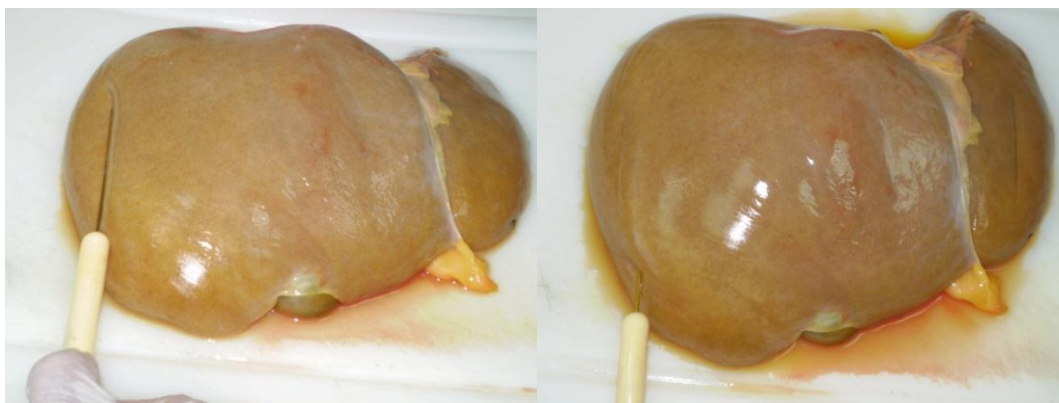


Fig. 57 Dos ejemplos de las mediciones realizadas en el hígado número 2, macroscópicamente esteatósico..

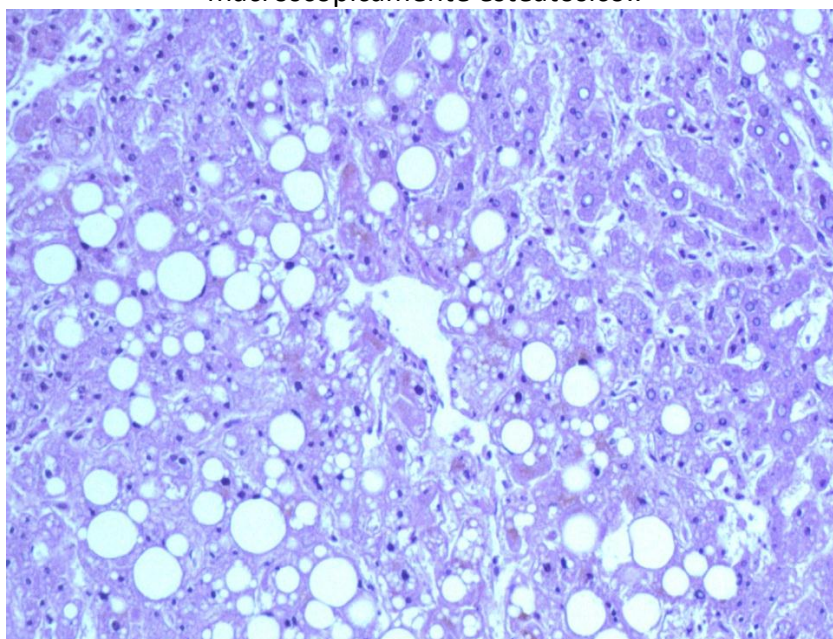


Fig. 58. Microscopía del hígado número 2, esteatosis centrolobulillar cuantificada como del 60 %

6.3. RESUMEN DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES

Todos estos ensayos preliminares nos permitieron en primer lugar diseñar un modelo de electrodo y seleccionar un aparato de medida acorde con nuestros requerimientos.

Comprobar que las mediciones caían dentro del rango de medidas aceptable y medible por nuestros aparatos sin necesidad de realizar modificaciones eléctricas.

Comprobar que las mediciones eran homogéneas, si se realizaban en las mismas condiciones y con la misma metodología.

Comprobar que la presencia de grasa en el parénquima hepático aumenta significativamente la BI.

Comprobar que el modelo porcino (hígado de mayor dimensión) es el mejor modelo para realizar estudios de determinación de BI.

Comprobar que en cualquiera de los casos las mediciones realizadas con el electrodo apoyado en la superficie del parénquima hepático ofrece mayor resistencia que las realizadas con el electrodo insertado

Los datos que ofrecen las mediciones realizadas con el electrodo tetrapolar y generador multifrecuencia en parénquima hepático ex-vivo de cerdo y oca nos apuntan que hay ciertas frecuencias en las que es más patente la diferencia en conductividad en función de la presencia de grasa.

Los datos ofrecidos tras las mediciones de los hígados procedentes de extracciones no válidas, son contradictorios (Hay que tener en cuenta que estos hígados habían sido previamente congelados y descongelados; entendemos que este probablemente haya afectado a la ultraestructura de la membrana celular).

7.HIPÓTESIS

7.- HIPÓTESIS

Existe una correlación entre la impedancia del hígado (medida con un electrodo tetrapolar implantado en el seno del parénquima y con una corriente de radiofrecuencia de frecuencia definida) y la cantidad de grasa (esteatosis) medida en porcentaje, del estudio anatomopatológico.

Hipótesis secundaria, existe correlación estadística tanto con el electrodo insertado en el parénquima hepático, como con el electrodo apoyado en la superficie

Como hipótesis terciaria, existe una frecuencia de la corriente a la cual las diferencias de la BI son máximas entre el tejido normal y el esteatósico

8.MATERIAL Y MÉTODOS.

8. MATERIAL Y MÉTODOS.

8.1.DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio experimental prospectivo realizado en animal de experimentación

8.1.1.Sujetos de estudio

Utilizamos cerdos de raza Large White x Landrace de un peso aproximado de 25 Kg. Y de dos meses de edad, provenientes de una granja de cría para experimentación. Los animales fueron estabulados en las instalaciones del Servicio de experimentación animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza.

Utilizamos un modelo de grandes animales (cerdos) por permitirnos realizar las experiencias con electrodos de gran tamaño, susceptibles de ser usados en el humano, además de por su similitud al hígado humano.

Grupos de estudio

Utilizaremos 2 grupos de animales. Grupo 1: (n=15) de animales sometidos a la dieta especial esteatósica y Grupo 2 o grupo control (n=3) de animales sometidos a dieta convencional

Dietas

Los animales del grupo control serán sometidos a una dieta convencional ofrecida ad libitum, formulada con alto contenido en fibra y con una menor concentración energética de 2.600 kcal EM/kg, menor a la recomendada (80 % de las necesidades⁸⁸), pero manteniendo la relación energía/lisina, con el fin de ralentizar el crecimiento y evitar el engrasamiento por la larga duración del período experimental previsto.

Los animales del grupo-1º grupo de estudio serán sometidos a una dieta especial, formulada por el servicio de bioquímica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad

Los animales del grupo-1º grupo de estudio serán sometidos a una dieta especial, formulada por el servicio de bioquímica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, especialmente diseñada para producir un hígado esteatósico, dicha dieta es original y ha sido probada en el cerdo con anterioridad, la característica principal de la misma es que contiene un alto contenido en grasa saturada (25 %) y es deficiente en metionina (<1/4 de las necesidades) y colina (1/6 de las necesidades), suplementada además con 2 % de colesterol y 0,5 % de colato sódico.

Ingredientes	%	Principios inmediatos	(%)
Almidón	12,0	E. Metabolizable (kcal/kg)	4.014
Fructosa	18,0	Proteína bruta	8,5
Maltodextrina	14,4	Extracto etéreo	25,2
Sacarosa	2,0	Fibra bruta	8,0
Celulosa	10,0	FND	10,1
Paja	1,5	Almidón	11,5
Grasa hidrogenada	25,0	Lisina	0,85
Harina plumas	5,6	Metionina	0,07
Plasma porcino	4,0	Colina (mg/kg)	50,3
Colesterol	2,0		
Colato sódico	0,5		
Cloruro sódico	0,4		
A. ácidos y minerales	4,5		
Corrector Vit. Min.	0,2		

Tabla 8. Ingredientes y composición de la dieta esteatósica

La dieta formulada de este modo es capaz de provocar esteatosis hepática a los pocos meses de su inicio, sin necesidad de utilizar elementos tóxicos extraños (como el alcohol), sin provocar otras alteraciones fisiológicas, por un mecanismo mixto de acúmulo de grasa y déficit de vehiculización de la grasa fuera del hepatocito.

A mitad del proceso de provocación de la esteatosis, aproximadamente a los 3 meses del inicio de la dieta todos los cerdos fueron sometidos a una ecografía abdominal, para estudiar la ecogenicidad del hígado con respecto a la del bazo y seguidamente a una biopsia ecoguiada por medio de una aguja Tru-Cut calibre 16, bajo anestesia local y sedación.

8.1.2. Material

8.1.2.1. Electrodo

Dado que ninguno de los electrodos descritos en la literatura respondía a nuestros requerimientos: modelo tetrapolar, de aplicación en grandes animales y que ocasionara una mínima lesión en el órgano nos vimos en la obligación de diseñar un modelo original y buscar un fabricante. El modelo sería un electrodo tetrapolar a lo largo de una fina aguja de punción con la punta roma y una distancia entre los polos definida para medir una porción de tejido significativa.

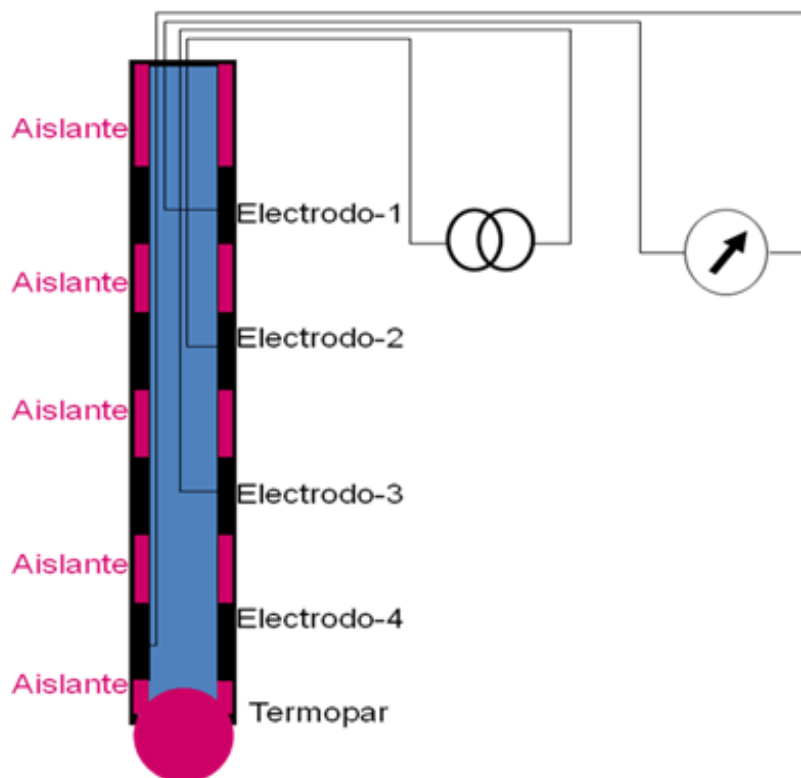


Fig. 59 Diseño de electrodo tetrapolar

→ Los electrodos de nuestro estudio han sido diseñados por nuestro grupo y fabricados por la empresa suiza Medelec®, habitual colaboradora de nuestros trabajos.

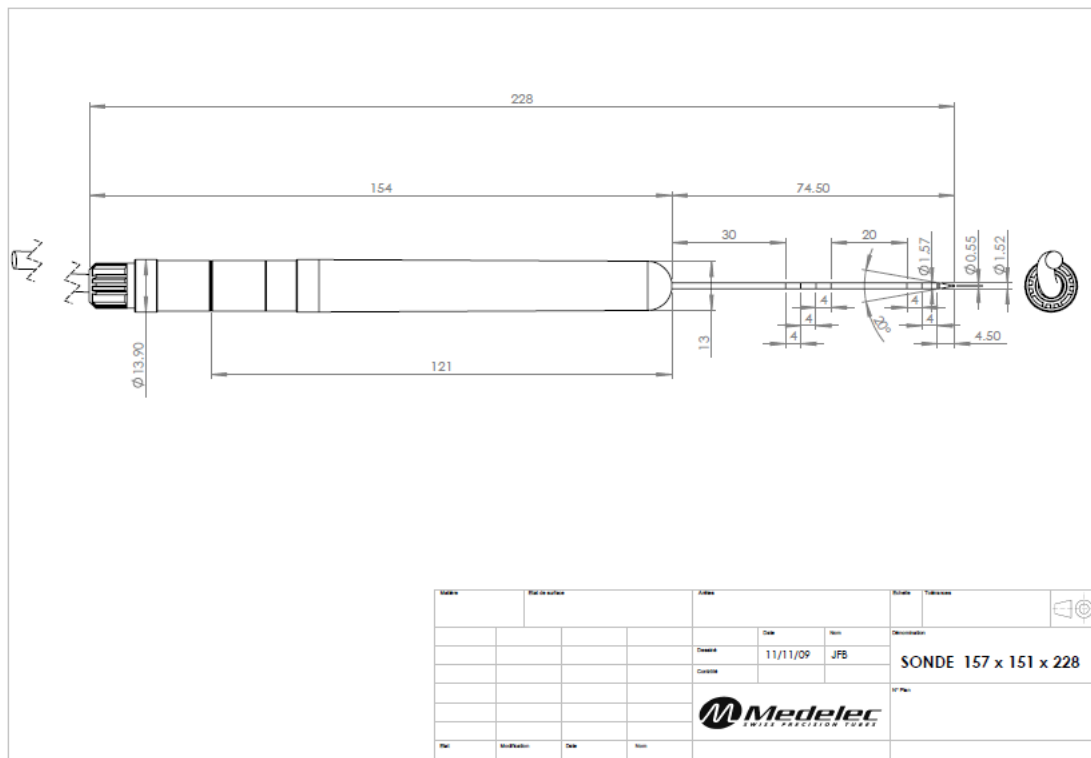


Fig. 60. Plano de la nueva sonda

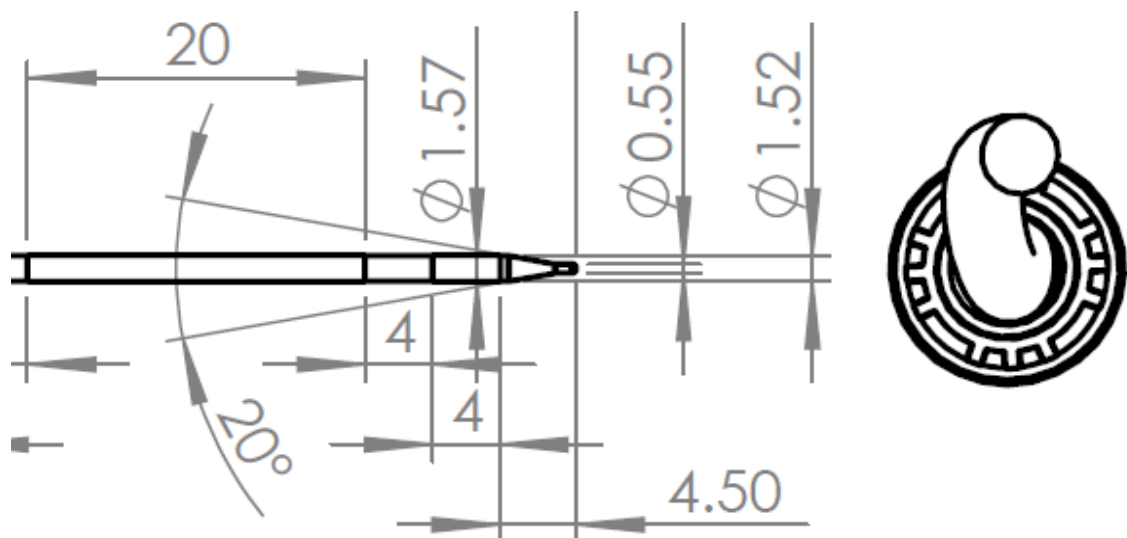


Fig. 61. Detalle del electrodo, dimensiones en mm

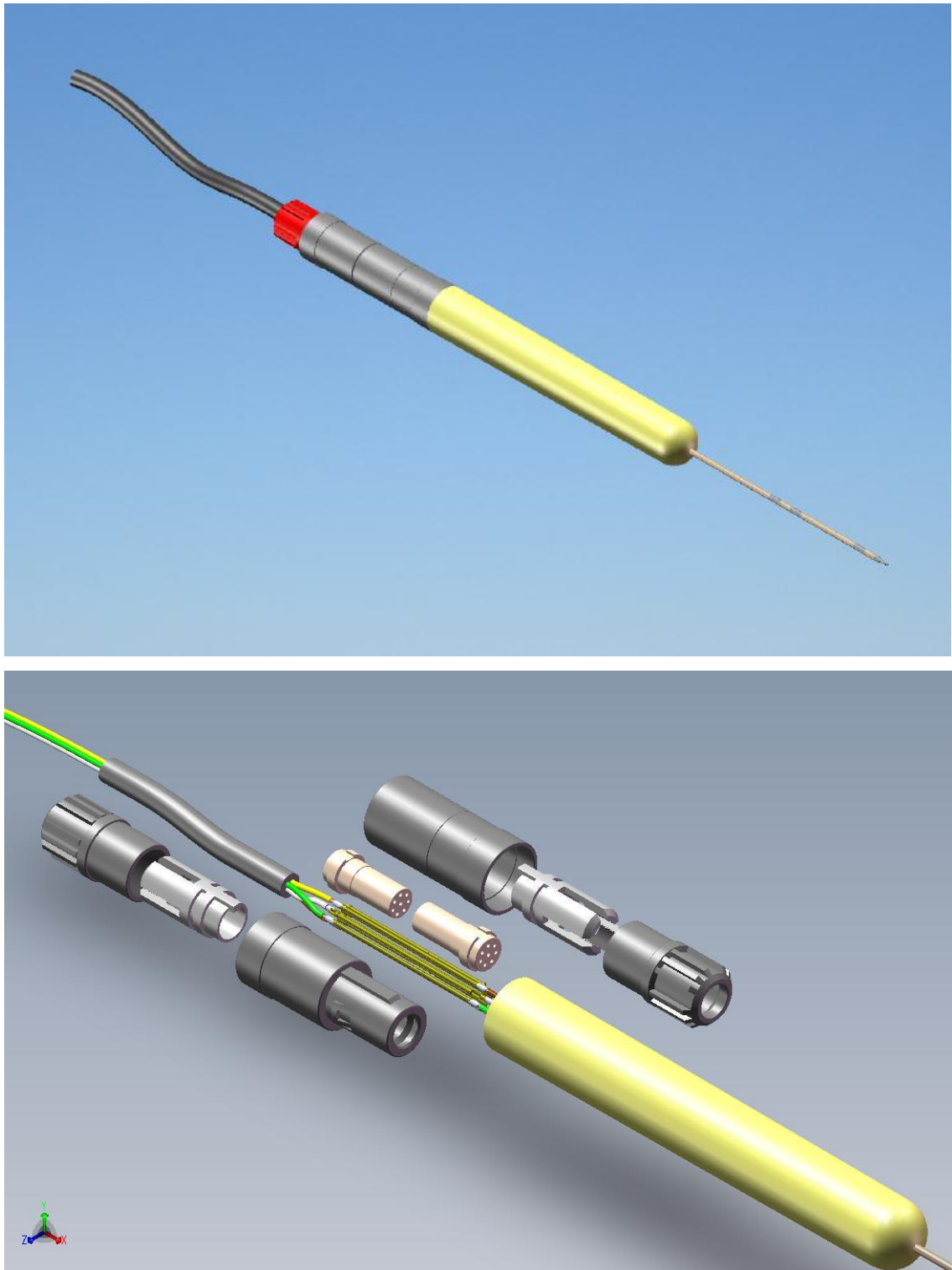


Fig. 62 y 63. Estructura interna del electrodo en sus partes fundamentales

Las características más importantes del diseño son:

- Es un electrodo implantable de 2,5 mm de diámetro con punta roma atraumática, que permite su inserción en el hígado sin causar daño a las estructuras internas
- Integra los dos circuitos (de tensión y de medición) en la misma aguja
- La distancia entre los polos del circuito medidor esta optimizada para medir una porción suficiente de parénquima hepático (2cm).

8.1.2.2. Sistema de medición

Utilizamos un sistema de medida compuesto por un aparato medidor multifrecuencia de uso médico conectado a 4 cables de salida que se acoplaban a los cables de salida del electrodo. El aparato de medición fue un modelo ImpediMed Imp SFB7, el cual es un aparato de uso médico, para su uso en pacientes humanos, utilizado como análisis de la composición corporal.

Fue necesario realizar algunas adaptaciones externas sin necesidad de modificar el internamente el aparato de medición,

Características del aparato:

Utiliza corriente alterna de la unidad 200 μ A RMS, a una frecuencia variable de 4 a 1000 kHz.

Barrido de frecuencia Límites: 4 y 1000 kHz (256 frecuencias), dentro de la región denominada Beta, que es la más adecuada para determinar la dispersión generada por membranas, proteínas y partículas orgánicas.

Velocidad de barrido: <700ms

Impedancia 10 a 1100 Ω

Presenta los datos de impedancia al usuario en forma de gráficos que muestran la resistencia y la reactancia trazadas contra la frecuencia, y un gráfico de Cole-Cole. El análisis de los datos se ajusta en una curva de modelo de Cole a los datos determinados. Los datos de origen y los resultados de los análisis pueden verse en forma de texto o de gráfico.

Nombre	Explicación
R centre [Centro R]	Valor de resistencia del centro del semicírculo de Cole que se ajusta a los datos.
X centre [Centro X]	Valor de reactancia del centro del semicírculo de Cole que se ajusta a los datos.
Radius [Radio]	Radio del semicírculo de Cole.
SEE	Error estándar de la estimación del radio del semicírculo de Cole, comparado con los datos determinados.
R_0 o R cero	Resistencia prevista del organismo a la frecuencia cero.
R_8 o R inf	Resistencia prevista del organismo a la frecuencia infinita.
fc	Frecuencia característica, es decir, la frecuencia en la que la reactancia es máxima.
Zc	Magnitud prevista de la impedancia corporal en la frecuencia característica.
Re	Resistencia del compartimento extracelular en el circuito equivalente de Cole.
Ri	Resistencia del compartimento intracelular en el circuito equivalente de Cole.
Membrane capacitance [Capacitancia de membrana]	Resistencia del elemento de capacitancia en el circuito equivalente de Cole.

Tabla 9. Variables que aparecen en las mediciones estándar



Fis. 64. Generador multifrecuencia Imp SFB7

8.1.2.3. Quirófano

Las experiencias se realizarán en el Servicio de apoyo a la investigación animal (SAIAE) localizado en la facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza.

Las intervenciones se realizarán en quirófano experimental equipado, en condiciones de esterilidad, bajo anestesia general y monitorización completa. Se utilizarán equipos e instrumental quirúrgico y anestésico convencional.



Fis. 64. Equipo de anestesia de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza

8.2. PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN

8.2.1. Manejo del animal durante el procedimiento

Tras una sedación con Zolatil y Metomidina im, se les cateteriza una vía periférica en la oreja. Tras preoxigenar al animal se administra Propofol para proceder a la intubación en decúbito prono. Se monitorizan las constantes hemodinámicas y el EKG durante todo el procedimiento.



Fig. 64 y 65 Cerdo con vía periférica y oxígeno en mascarilla. Intubación orotraqueal.

Tras practicar una laparotomía media amplia se expone el hígado y se aíslan los lóbulos donde se realizarán las mediciones, una vez realizadas se practica una biopsia del mismo lóbulo.



Fig. 66 y 67. Limpieza del abdomen del cerdo. Laparotomía media.

Terminado el procedimiento los animales son sacrificados mediante inyección i.v. de Pentotal. Y el animal es tratado como residuo orgánico.

El procedimiento ha sido admitido por la comisión ética animal de la Universidad de Zaragoza.

8.2.2. Aplicación del electrodo

Se escogieron los segmentos 3 y 4 del hígado porcino, que son los más accesibles en una laparotomía media.

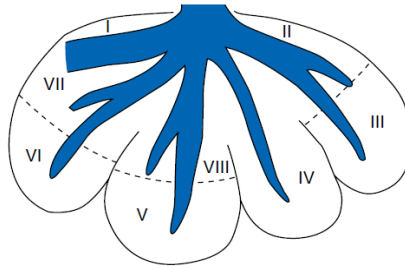


Fig. 68. Segmentación del parénquima hepático porcino⁸⁹

Se realizaron mediciones en ambos segmentos

- con el electrodo insertado en el centro del segmento (desde el borde hacia la raíz del mismo) de tal modo que los 4 polos quedaban dentro del parénquima hepático,
- y con el electrodo tan solo apoyado en la superficie superior del mismo segmento.

En total 4 mediciones diferentes en cada animal.

- Apoyado segmento 3
- Insertado segmento 3
- Apoyado segmento 4
- Insertado segmento 4



Fig. 69 Electrodo apoyado en la superficie del parénquima hepático.

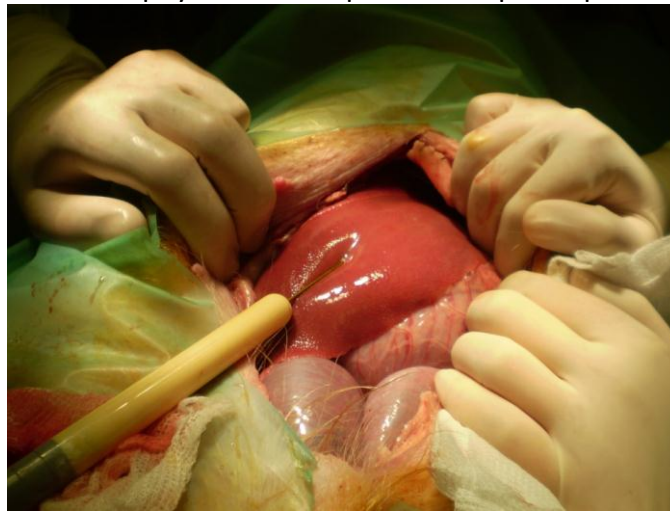


Fig. 70 Electrodo tetrapolar insertado en el parénquima hepático.

8.2.3. Detector multifrecuencia

En cada medición el detector genera de forma automática unas gráficas de resistencia vs frecuencia, reactancia vs frecuencia y unas gráficas de Cole-Cole.

A cada una de las mediciones el aparato asigna un número. En cada una de las localizaciones la medición el aparato la realiza por duplicado, tan sólo con un intervalo de 2 segundos (así se pudo detectar que la variabilidad existente en una misma localización con un intervalo de 2 segundos era nula).

Una vez descargados los datos al ordenador y utilizando el software del SFB7 permite obtener los datos numéricos de resistencia para cada una de las frecuencias utilizadas. Para de esta forma hacer posible en análisis estadístico.

8.2.4. Recogida de datos

Se utilizó una tabla sencilla para recoger cada uno de los números que genera el detector multifrecuencia en cada una de las mediciones.

-Sonda tetrapolar de 1,5 mm con detector multifrecuencia		Apoyado en superficie		1 cm de profundidad	
		L 4	L 3	L 4	L 3
	Curvas				

Tabla 10. Tabla de toma de datos

8.2.5. Toma de biopsias y procesamiento

Tras finalizar las mediciones se procedió a tomar una muestra biopsia del mismo segmento (lóbulo 4), la cual fue conservada en formol, para estudio histopatológico.

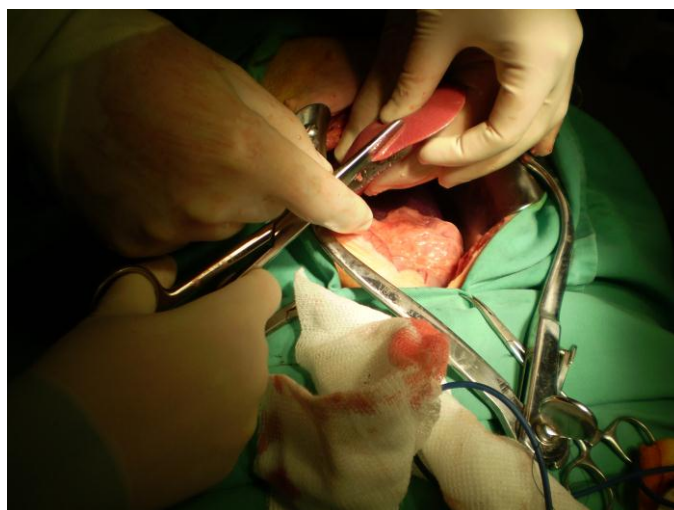


Fig. 71 Biopsia en cuña del lóbulo 4.

Una vez fijada la muestra se procedió a su tallaje y posterior realización de los cortes pertinentes para tinción común mediante hematoxilina eosina.

Las muestras fueron visualizadas al microscopio óptico y sus fotografías fueron tomadas con el soporte informático XXX.

El grado de esteatosis será cuantificado en porcentaje de hepatocitos con inclusiones de grasa sobre el total en un lobulillo.

8.3. VARIABLES

Utilizamos las siguientes variables:

- El lugar de la medición (segmentos 3 y 4)
- Tipo de medición:
 - Insertado en el parénquima hepático
 - Apoyado sobre la superficie hepática
- La frecuencia de la corriente utilizada (4 kHz hasta 1 MHz)
- Impedancia del circuito de medición
- Grado de esteatosis (%), estudiado mediante tinción con H&E de una zona adyacente a la medición, con un estudio convencional
- Tipo de esteatosis (macro o microesteatosis)
- Otros hallazgos histológicos
- Peso del animal

8.4. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se utiliza el programa gratuito Epidadt 3.1.

El objetivo principal de la tesis es estudiar la correlación entre la BI y la esteatosis, por tanto, el cálculo del tamaño muestral se basa en un procedimiento iterativo descrito en Machin y cols⁹⁰. (Machin D, Campbell M, Fayers P, Pinol A. Sample size tables for clinical studies. 2nd ed. Blackwell Science; 1997.) para evaluar si un coeficiente de correlación entre estas dos medidas es diferente de cero asumiendo que los datos siguen una distribución normal y un nivel de significación del 95 %.

Estimamos que el Coeficiente de correlación a detectar está entre 0,70 y 0,80 [datos aproximados ofrece Hessheimer ²⁸], para una potencia entre el 80% y el 85 % será necesarias entre 9 y 12 unidades en nuestra muestra.

La muestra finalmente utilizada fue de 18.

8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A) Estadística descriptiva univariada:

Las variables cuantitativas serán exploradas con la prueba de conformidad de Kolmogorov – Smirnov. (prueba de bondad de ajuste a una distribución normal) y se darán indicadores de tendencia central (media o mediana) y de dispersión (desviación estándar o percentiles). Se realizan análisis bivariado y un modelo factorial de análisis de varianza para comparar la precisión de la medida de BI en función del procedimiento de medida empleado, es decir, los parámetros utilizados durante la medida (posición del electrodo, profundidad de la inserción, frecuencia utilizada... etc. Una vez obtenido el procedimiento de medida para el método de ensayo analítico/clínico, se desea comparar los resultados de BI medidos con el % de los hepatocitos del tejido obtenidos mediante biopsia hepática en las mismas muestras.

C) RELACIÓN ENTRE DOS VARIABLES CUANTITATIVAS:

Correlaciones bivariadas. Calcularemos el coeficiente de correlación de Pearson para medir la asociación lineal entre el grado de esteatosis y la impedancia del tejido (BI). Antes de calcular un coeficiente de correlación, se inspeccionarán los datos para detectar valores atípicos que pueden generar resultados equívocos y evidencias de una relación lineal.

9.RESULTADOS

9. RESULTADOS

9.1. PESO DE LOS ANIMALES

PESO INICIO

El peso medio inicial de los animales fue de 27,82 kg (rango de 18-45), con una desviación típica de 6,33 kg.

Los animales del grupo de estudio (esteatósicos) tuvieron un peso medio inicial de 29,14 kg (rango 21,1-45), con una desviación típica de 5,97.

Los animales del grupo control (sanos) tuvieron un peso medio inicial de 21,33 kg (18-25,1), con una desviación típica de 3,59.

La distribución de los pesos iniciales en los dos grupos siguió una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov).

Esteatósicos		
N	Válidos	15
	Perdidos	0
Media		29,1467
Error típ. de la media		1,54254
Mediana		29,8000
Desv. típ.		5,97421
Rango		23,90
Mínimo		21,10
Máximo		45,00

Tabla 11. Peso inicial en los animales del grupo estudio

Sanos

	Válidos	3
	Perdidos	0
Media		21,2333
Error típ. de la media		2,07391
Mediana		20,6000
Desv. típ.		3,59212
Rango		7,10
Mínimo		18,00
Máximo		25,10

Tabla 12. Peso inicial en los animales del grupo control

Gráfico Peso Inicio Global

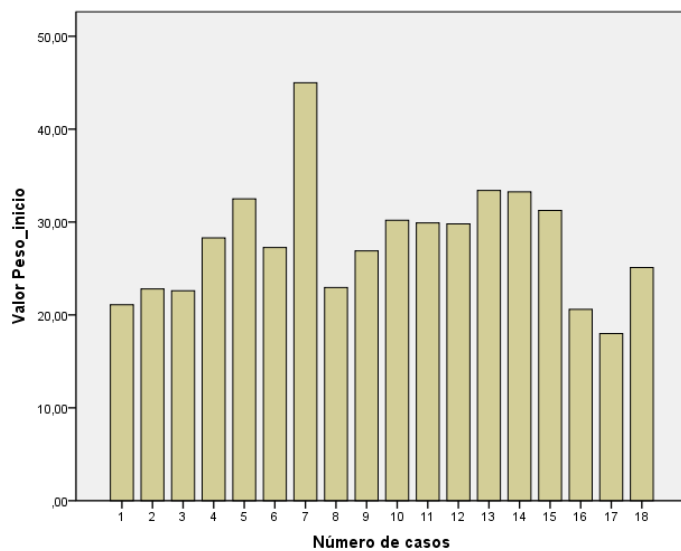


Fig. 72. Peso inicial de todos los animales

Gráficas Peso Inicio Grupo esteatósicos Grupo sanos

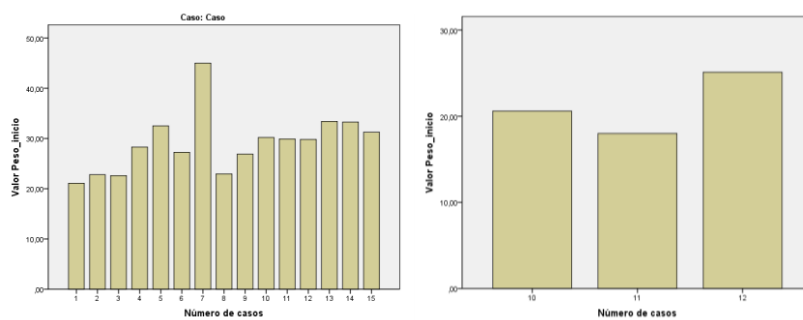


Fig. 73 Gráficas de pesos iniciales de los animales divididas en los dos grupos

Test de normalidad Esteatósicos

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra^c

		Peso_inicio
N		15
Parámetros normales ^{a,b}	Media	29,1467
	Desviación típica	5,97421
Diferencias más extremas	Absoluta	,172
	Positiva	,172
	Negativa	-,089
Z de Kolmogorov-Smirnov		,665
Sig. asintót. (bilateral)		,769

a. La distribución de contraste es la Normal.

Sanos

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra^c

		Peso_inicio
N		3
Parámetros normales ^{a,b}	Media	21,2333
	Desviación típica	3,59212
Diferencias más extremas	Absoluta	,237
	Positiva	,237
	Negativa	-,192
Z de Kolmogorov-Smirnov		,410
Sig. asintót. (bilateral)		,996

a. La distribución de contraste es la Normal.

Tabla 13. Test de Kolmogorov-Smirnov para la distribución de pesos iniciales

Los cerdos alimentados con pienso común, progresivamente fueron engordando a ritmo normal.



Fig. 74. Cerdos alimentados con pienso común, controles. Presentan aspecto saludable.

Sin embargo los cerdos del grupo de estudio, alimentados con el pienso deficitario en metionina y que además contenía colato, no sólo no engordaban, sino que mostraban un aspecto diferente. Su conducta era distinta de los del grupo control, su aspecto externo era menos saludable, presentaban alteraciones dermatológicas y presentaban dificultades para mantener el equilibrio.



Fig. 75 Cerdos alimentados con pienso dieta deficiente en metionina que contiene colato pertenecientes al grupo de estudio, escasa ganancia de peso y alteraciones dermatológicas

EVOLUCIÓN DEL PESO

- En los cerdos del grupo de estudio el peso medio final fue de 37,69 Kg. (rango 25,8-55 Kg.), con una desviación típica de 8,4. En los cerdos del grupo control el peso medio final fue de 111,66 Kg. (rango 105-120), con una desviación típica de 7,63. Ambos grupos estudio y control tuvieron una distribución normal.

- En los animales del grupo estudio la ganancia ponderal media final fue de 6,63 Kg. (rango -1,45 – 13 Kg.), con una desviación típica de 4,37. En los cerdos control la ganancia ponderal media final fue de 90,43 (rango 84,4-94,9), con una desviación típica de 5,42. Tanto el grupo de estudio como el grupo control la ganancia de peso siguió una distribución normal.

Global

Estadísticos				
		Peso inicio	Peso fin	Ganancia peso
N	Válidos	18	18	18
	Perdidos	0	0	0
Media		27,8278	50,0222	22,1944
Error típ. de la media		1,49294	6,95107	7,46855
Mediana		27,7750	41,9000	10,6000
Desv. típ.		6,33402	29,49089	31,68637
Varianza		40,120	869,713	1004,026
Rango		27,00	94,20	96,35
Mínimo		18,00	25,80	-1,45
Máximo		45,00	120,00	94,90

Tabla 14. Pesos inicial, final y ganancia de peso en los dos grupos

PESO FINAL

Esteatósicos		
N	Válidos	15
	Perdidos	0
Media		37,6933
Error típ. de la media		2,16939
Mediana		41,1000
Desv. típ.		8,40202
Rango		29,20
Mínimo		25,80
Máximo		55,00

Tabla 15. Pesos final de los animales del grupo de estudio

Sanos.

N	Válidos	3
	Perdidos	0
Media		111,6667
Error típ. de la media		4,40959
Mediana		110,0000
Desv. típ.		7,63763
Rango		15,00
Mínimo		105,00
Máximo		120,00

Tabla 16. Pesos final de los animales del grupo de control

Gráfico Peso Final

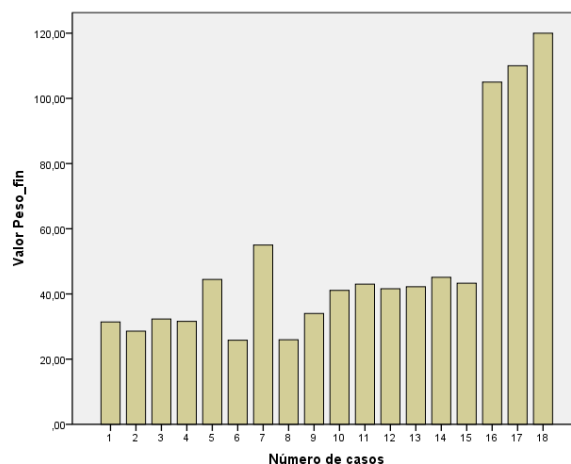


Fig. 76. Peso final de todos los animales

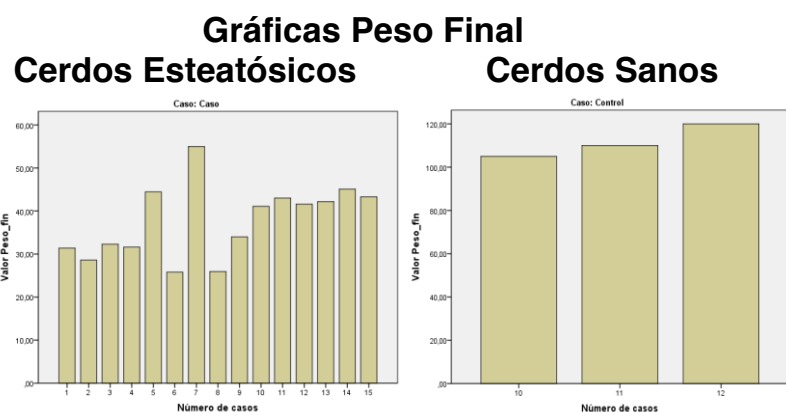


Fig. 77. Peso final de los animales

Test de normalidad para el peso final por grupos

Esteatósicos

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra^c

		Peso_fin
N		15
Parámetros normales ^{a,b}	Media	37,6933
	Desviación típica	8,40202
Diferencias más extremas	Absoluta	,191
	Positiva	,140
	Negativa	-,191
Z de Kolmogorov-Smirnov		,739
Sig. asintót. (bilateral)		,646

a. La distribución de contraste es la Normal.

Sanos

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra^c

		Peso_fin
N		3
Parámetros normales ^{a,b}	Media	111,6667
	Desviación típica	7,63763
Diferencias más extremas	Absoluta	,253
	Positiva	,253
	Negativa	-,196
Z de Kolmogorov-Smirnov		,438
Sig. asintót. (bilateral)		,991

a. La distribución de contraste es la Normal.

Tabla 17. Test de Kolmogorov-Smirnov para la distribución de pesos finales

GANANCIA DE PESO

Esteatósicos

Estadísticos ^a		
Ganancia peso		
N	Válidos	15
	Perdidos	0
Media		8,5467
Error típ. de la media		1,08247
Mediana		10,0000
Desv. típ.		4,19240
Rango		14,55
Mínimo		-1,45
Máximo		13,10

Tabla 18. Ganancia de peso del grupo estudio

Control

N	Válidos	3
	Perdidos	0
Media		90,4333
Error típ. de la media		3,13067
Mediana		92,0000
Desv. típ.		5,42248
Rango		10,50
Mínimo		84,40
Máximo		94,90

Tabla 19. Ganancia de peso del grupo estudio

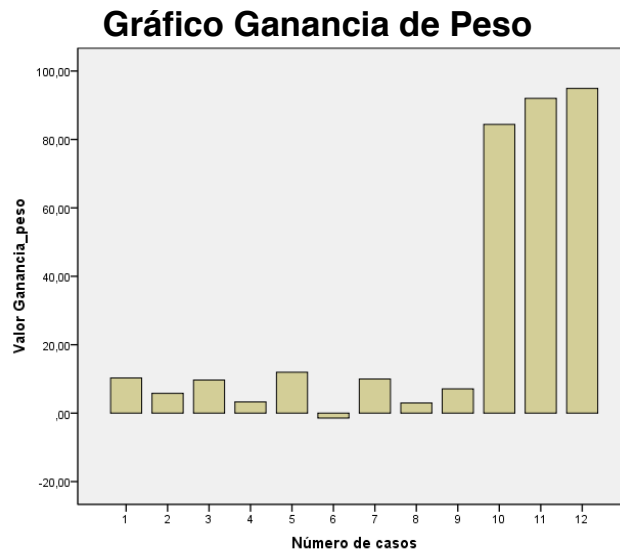


Fig. 78. Ganancia de peso de todos los animales

Test de normalidad para la ganancia de peso Esteatósicos

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra^c

		Ganancia_peso
N		15
Parámetros normales ^{a,b}	Media	8,5467
	Desviación típica	4,19240
Diferencias más extremas	Absoluta	,208
	Positiva	,139
	Negativa	-,208
Z de Kolmogorov-Smirnov		,807
Sig. asintót. (bilateral)		,533

a. La distribución de contraste es la Normal.

Controles

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra^c

		Ganancia_peso
N		3
Parámetros normales ^{a,b}	Media	90,4333
	Desviación típica	5,42248
Diferencias más extremas	Absoluta	,280
	Positiva	,205
	Negativa	-,280
Z de Kolmogorov-Smirnov		,486
Sig. asintót. (bilateral)		,972

a. La distribución de contraste es la Normal.

Tabla 20. Test de Kolmogorov-Smirnov para la distribución ganancia de peso

En resumen podemos decir que los animales de los dos grupos partían de un peso inicial muy uniforme, la dieta a la que fueron sometidos los animales del grupo estudio provocó una menor ganancia de peso comparada con la dieta normal que tuvo el grupo control.

9.2. ESTEATOSIS

Todos los animales adquiridos presentan un 0 % de esteatosis, dato procedente de la literatura y de estudios anteriores realizados con animales del mismo proveedor.

9.2.1. Biopsia intermedia (tru-cut)

A los 3 meses del inicio de dieta especial todos los animales fueron sometidos a una ecografía hepática y a una biopsia con aguja gruesa, para conocer el grado de infiltración grasa de su hígado.

En los animales del grupo de estudio la biopsia practicada demostró la existencia de una esteatosis entre el 15 y el 90 % (media de 63,33 % y desviación típica de 27,49), que se adaptaba a una distribución normal.

Los animales del grupo control no presentaron ningún grado de esteatosis.

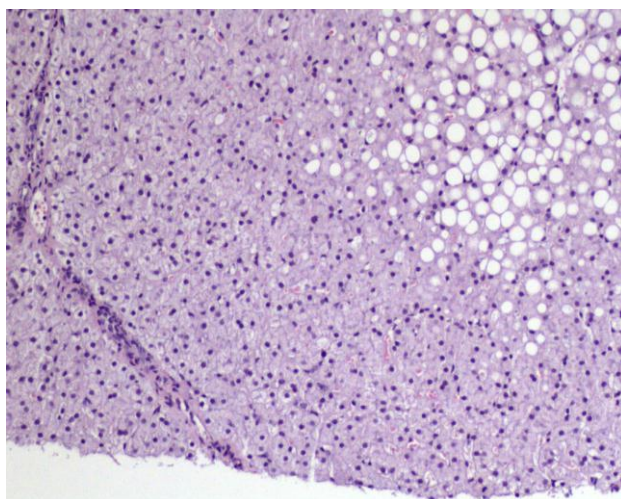


Fig. 79. Cerdo 385 perteneciente al grupo estudio HE 10X esteatosis centrolobulillar del
25%

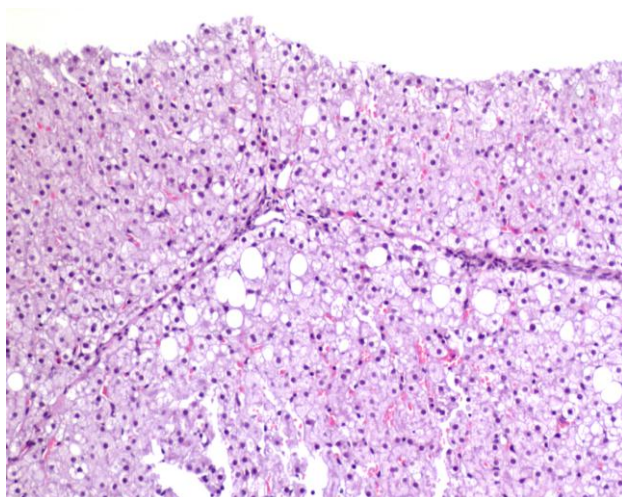


Fig. 80. Cerdo 397 perteneciente al grupo estudio HE 10X esteatosis periportal del 15%

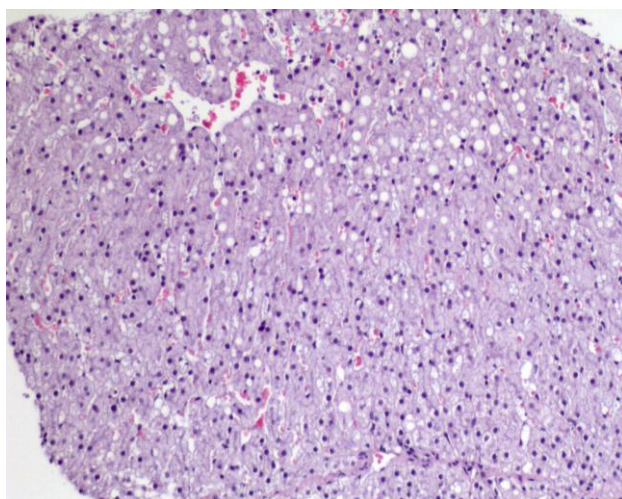


Fig. 81. Cerdo 391 perteneciente al grupo estudio HE 10X esteatosis centrolobulillar del 25%

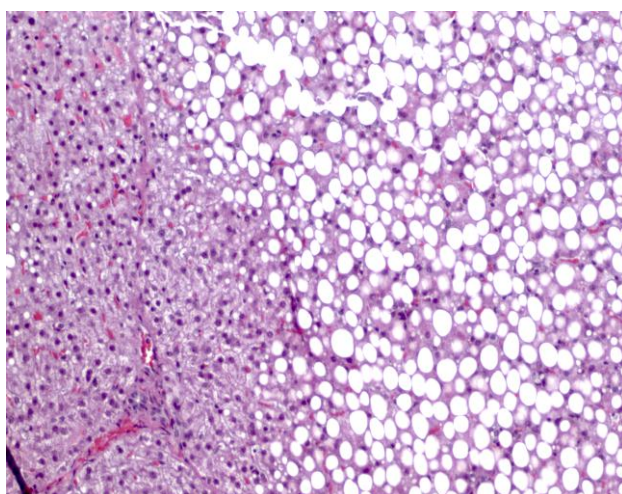


Fig. 82. Cerdo 180 perteneciente al grupo estudio, 10X esteatosis centrolobulillar del 70%

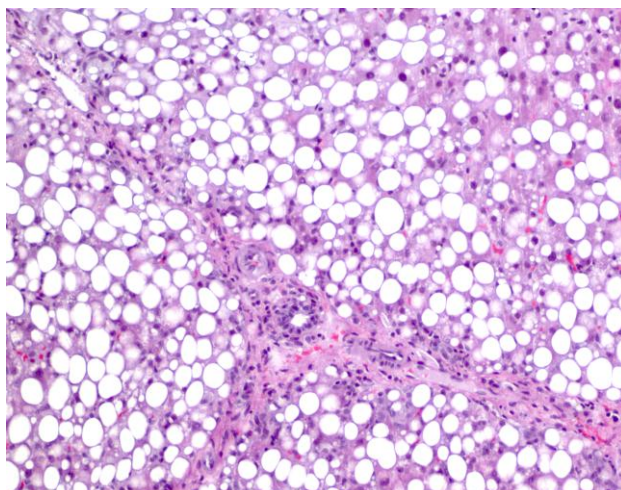


Fig. 83. Cerdo 183, perteneciente al grupo estudio HE 10X esteatosis panlobulillar del 90%

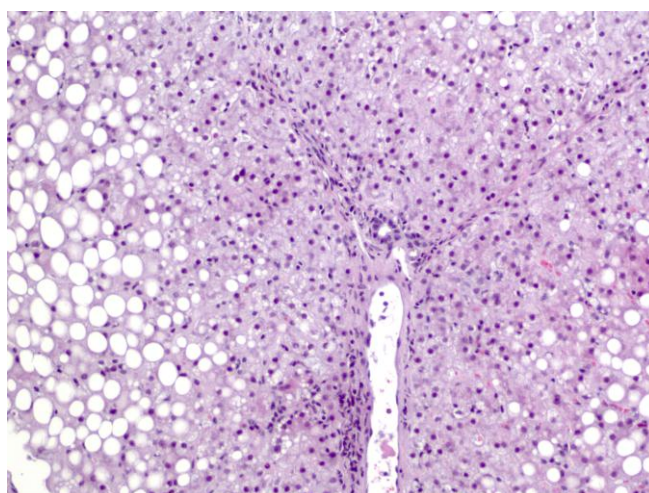


Fig. 84. Cerdo 184, perteneciente al grupo estudio HE 10X esteatosis centrolobulillar del 25%

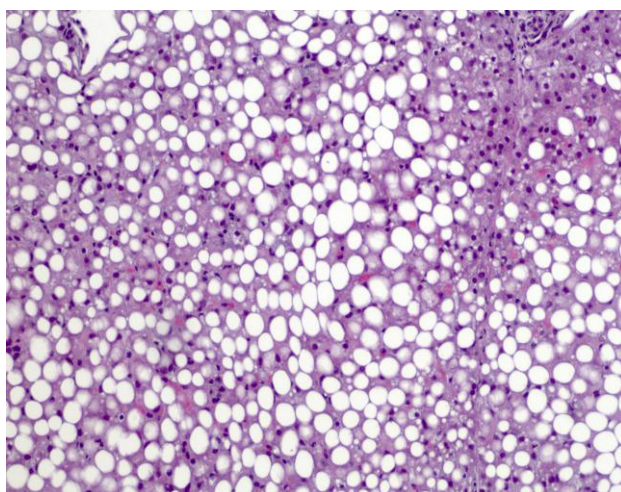


Fig. 85. Cerdo 185, perteneciente al grupo estudio. HE 10X esteatosis panlobulillar del 80%

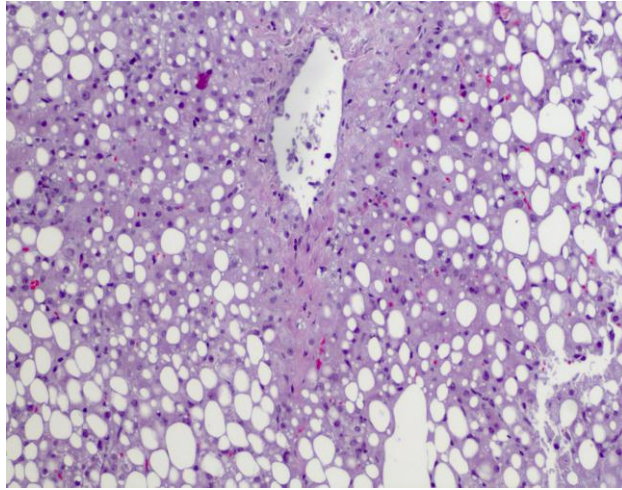


Fig. 86. Cerdo 186 perteneciente al grupo estudio. HE 10X esteatosis centrolobulillar del 80%

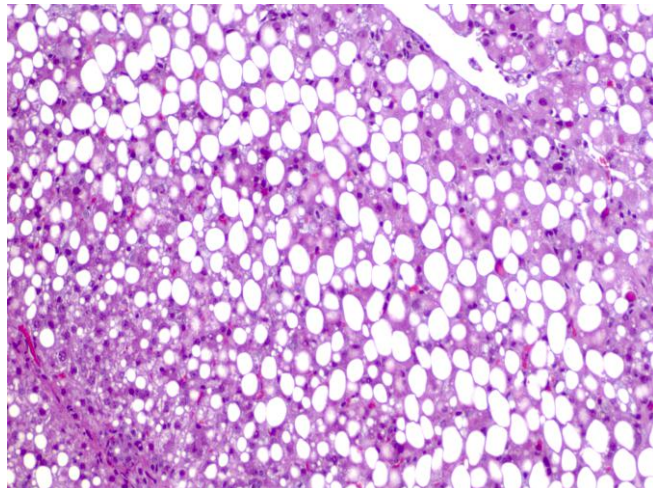


Fig. 87. Cerdo 187 10X esteatosis panlobulillar del 90%

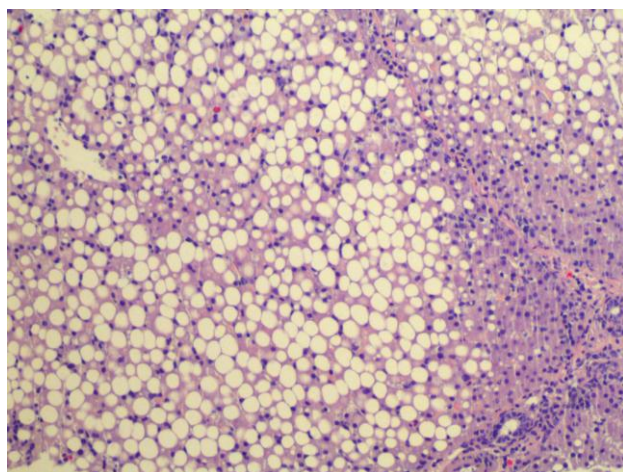


Fig. 88. Cerdo 227 10X esteatosis centrolobulillar del 80%

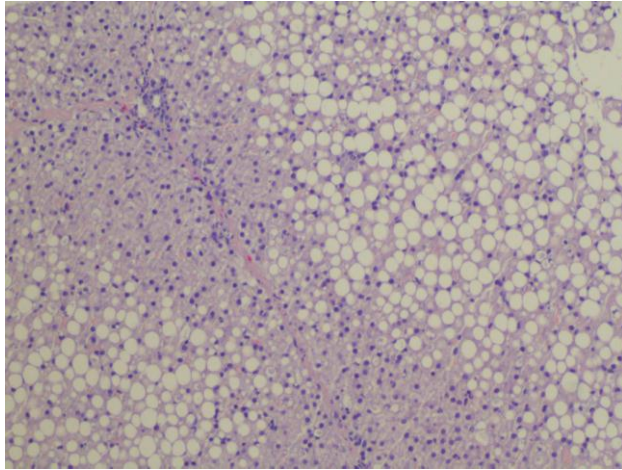


Fig. 89. Cerdo 226 10X esteatosis centrobulillar del 60%

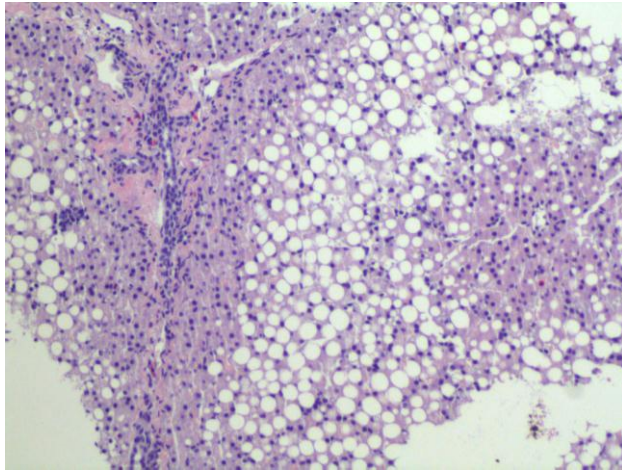


Fig. 90. Cerdo 228 10X esteatosis panlobulillar del 60%

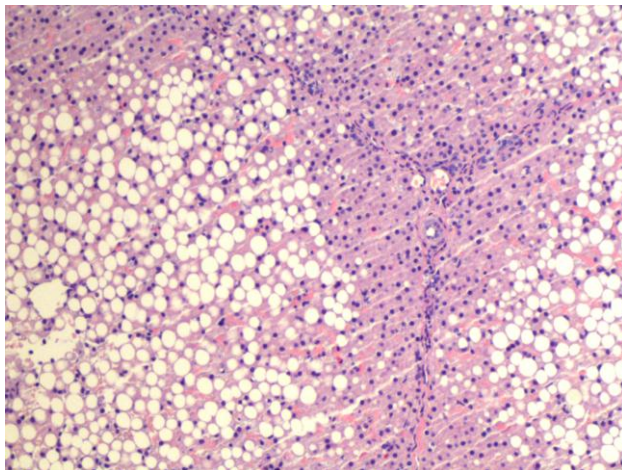


Fig. 91. Cerdo 236 10X esteatosis panlobulillar del 70%

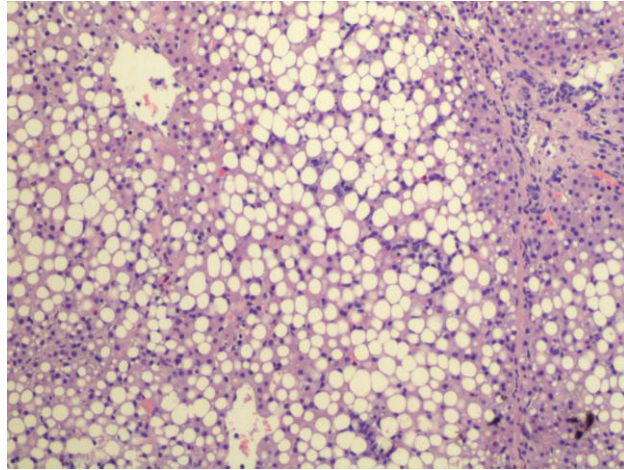


Fig. 92. Cerdo 237 10X esteatosis panlobulillar del 90%

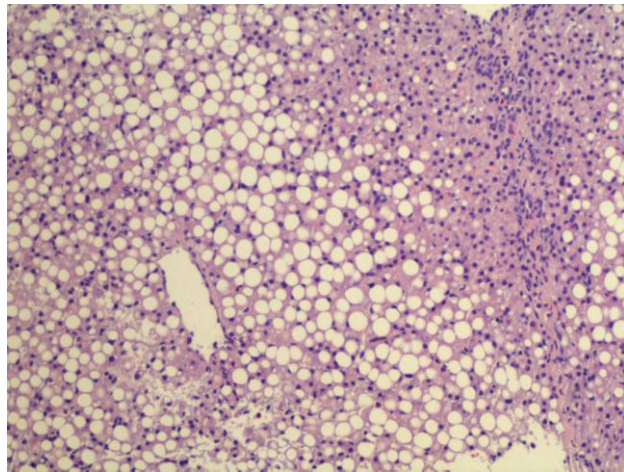


Fig. 93. Cerdo 238 10X esteatosis panlobulillar del 80%

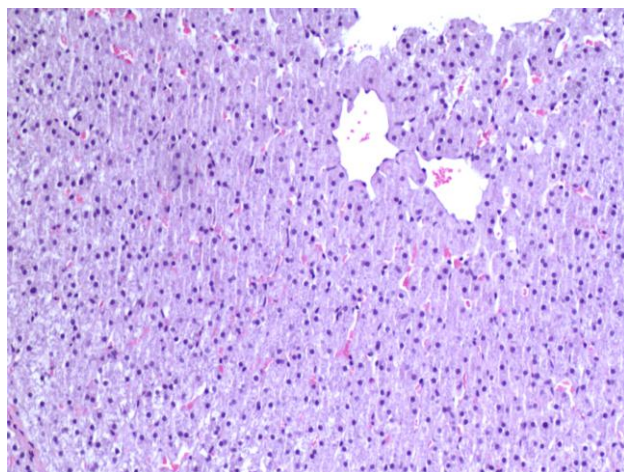


Fig.94 Cerdo 373, perteneciente al grupo control. HE 10X sin esteatosis

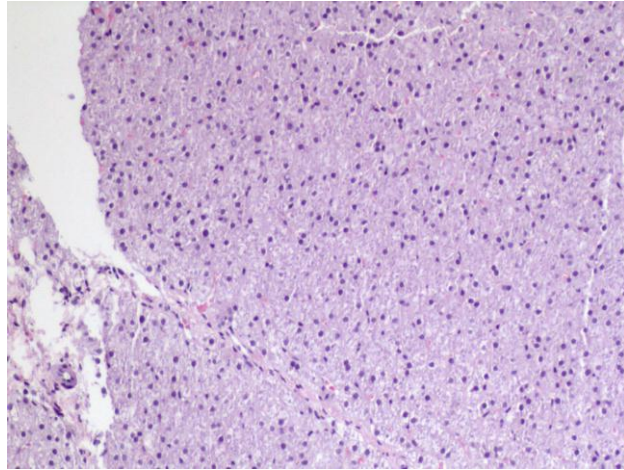


Fig.95 Cerdo 372, perteneciente al grupo control. HE 10X sin esteatosis

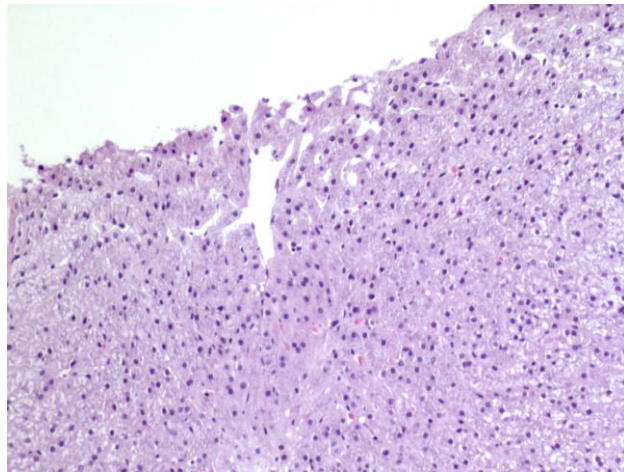


Fig.96 Cerdo 161, perteneciente al grupo control. HE 10X sin esteatosis

Esteatósicos, esteatosis a los 3 meses

Estadísticos^a

Esteatosis

N	Válidos	15
	Perdidos	0
Media		63,3333
Error típ. de la media		7,08228
Mediana		70,0000
Desv. típ.		27,42956
Rango		75,00
Mínimo		15,00
Máximo		90,00

Estadísticos^a

Esteatosis

N	Válidos	15
	Perdidos	0
Media		63,3333
Error típ. de la media		7,08228
Mediana		70,0000
Desv. típ.		27,42956
Rango		75,00
Mínimo		15,00
Máximo		90,00

a. Caso = caso

Tabla 21. Esteatosis detectada en la biopsia intermedia realizada a los 3 meses del inicio de la dieta descrita.

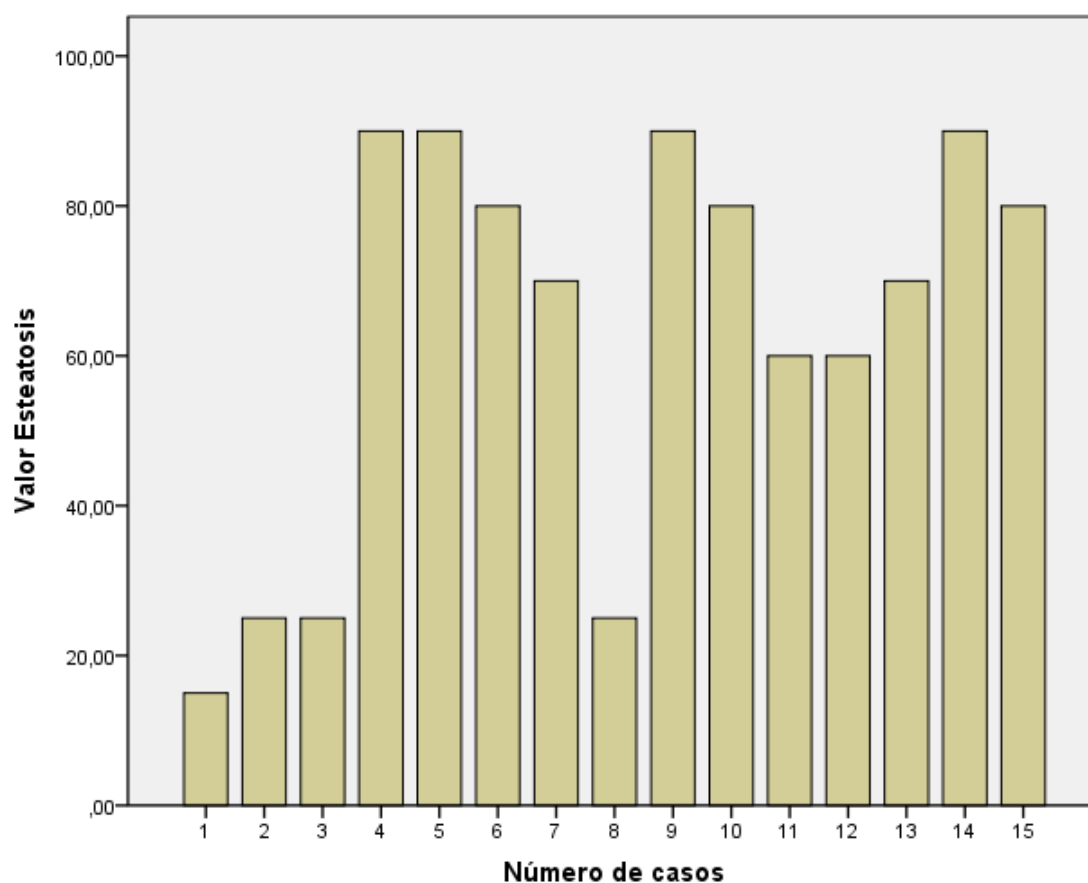


Fig. 97. Grado de esteatosis detectada en la biopsia intermedia realizada a los 3 meses del inicio de la dieta descrita.

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra ^c			Esteatosis
N			15
Parámetros normales ^{a,b}	Media		63,3333
	Desviación típica		27,42956
Diferencias más extremas	Absoluta		,196
	Positiva		,186
	Negativa		-,196
Z de Kolmogorov-Smirnov			,759
Sig. asintót. (bilateral)			,612

a. La distribución de contraste es la Normal.

Tabla 22. Test de Kolmogorov-Smirnov para la esteatosis en la biopsia intermedia. Normalidad en la muestra.

A los tres meses del inicio del estudio, la biopsia hepática con aguja gruesa demostró la presencia de esteatosis en todos los animales del grupo de estudio, en grados variables, y la ausencia de esteatosis en los animales del grupo control.

9.2.2. Biopsia final

Al final del periodo de dieta especial, se practicaron biopsias hepáticas a cielo abierto. Los animales del grupo control no presentaron esteatosis. Los datos de la esteatosis obtenida en ambos grupos se indican en la siguiente tabla.

Resúmenes		
Animal		% Esteatosis
397		70,00
385		25,00
391		20,00
186		90,00
187		90,00
185		90,00
180		80,00
184		80,00
183		90,00
227		80,00
226		80,00
228		90,00
236		90,00
237		90,00
238		90,00
373		,00
161		,00
372		,00
Total	N	120
	Media	64,1667
	Mediana	80,0000
	Error típ. de la media	8,51997
	Mínimo	,00
	Máximo	90,00
	Rango	90,00
	Desv. típ.	36,14717

Tabla 23. Esteatosis final obtenida en todos los animales .

La esteatosis obtenida sigue una distribución normal., como se muestra a continuación, dado que la significación asintótica bilateral es $> 0,05$.

Esteatósicos

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra ^c			Esteatosis
N			9
Parámetros normales ^{a,b}	Media		56,6667
	Desviación típica		33,16625
Diferencias más extremas	Absoluta		,275
	Positiva		,275
	Negativa		-,212
Z de Kolmogorov-Smirnov			,824
Sig. asintót. (bilateral)			,506

a. La distribución de contraste es la Normal.

Tabla 24. Test de Kolmogorov-Smirnov para la esteatosis en la biopsia final. Normalidad en la muestra.

Gráfico

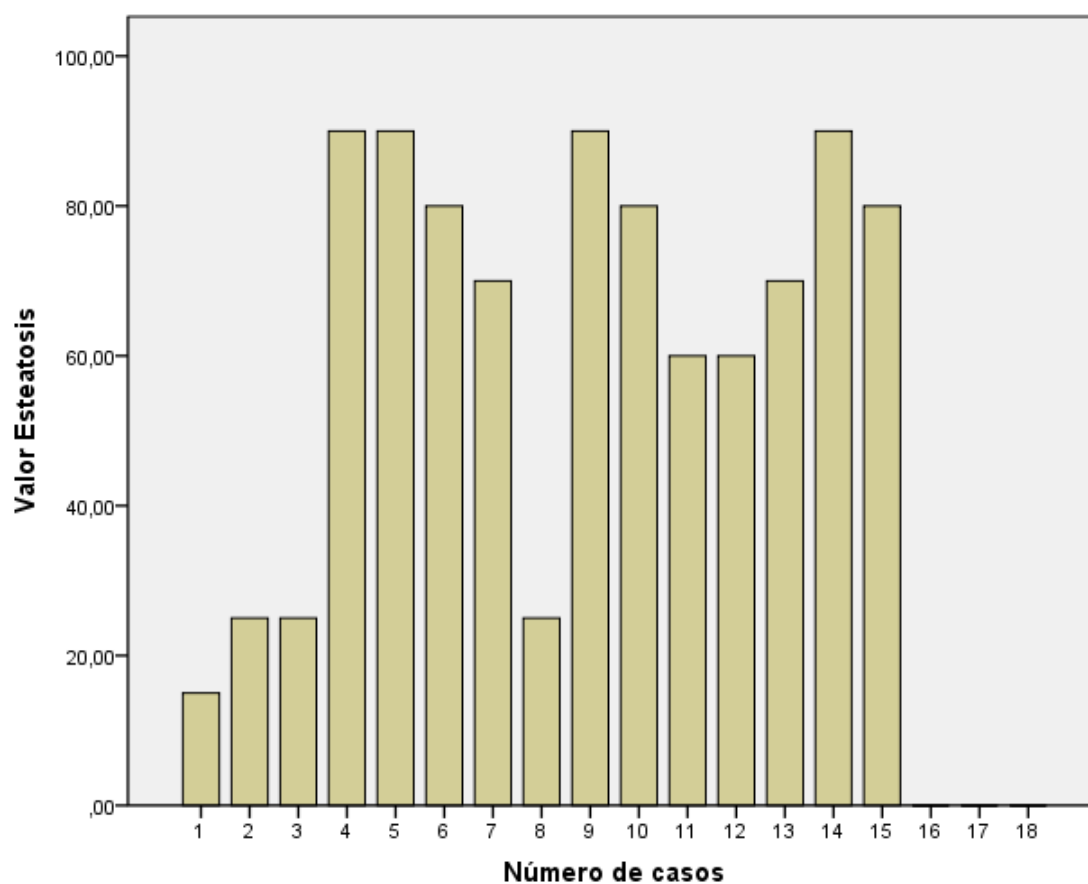


Fig. 98. Esteatosis obtenida (en %) en todos los animales

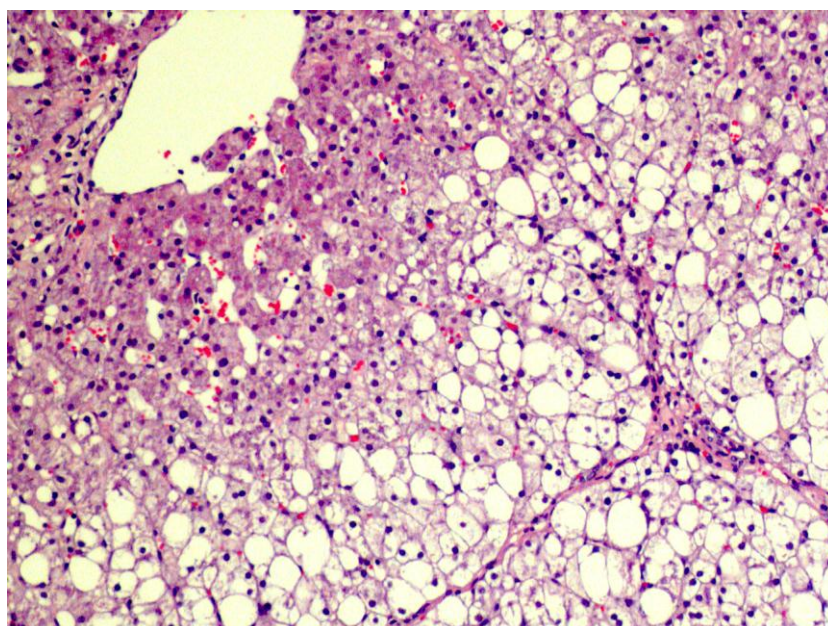


Fig.99. Cerdo 397 perteneciente al grupo estudio. HE 10X esteatosis periportal del 70%

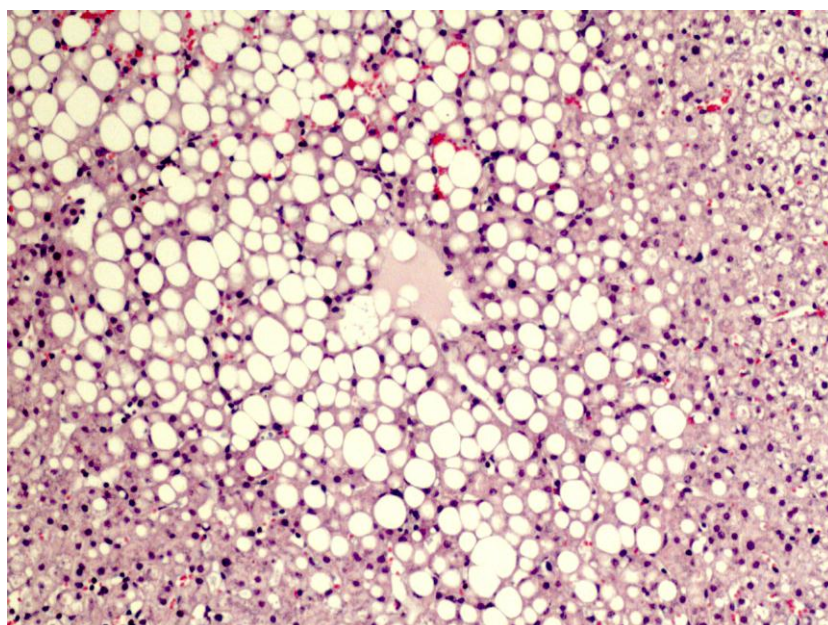


Fig. 100. Cerdo 385 perteneciente al grupo estudio. HE 10X esteatosis centrolobulillar de 25%

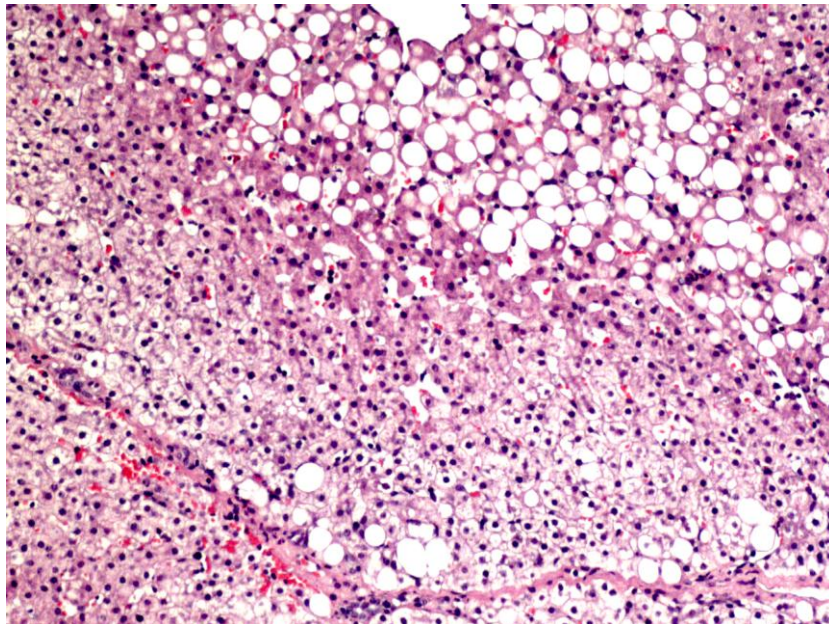


Fig. 101. Cerdo 391 perteneciente al grupo estudio. HE 10X esteatosis mixta en su distribución de 20%

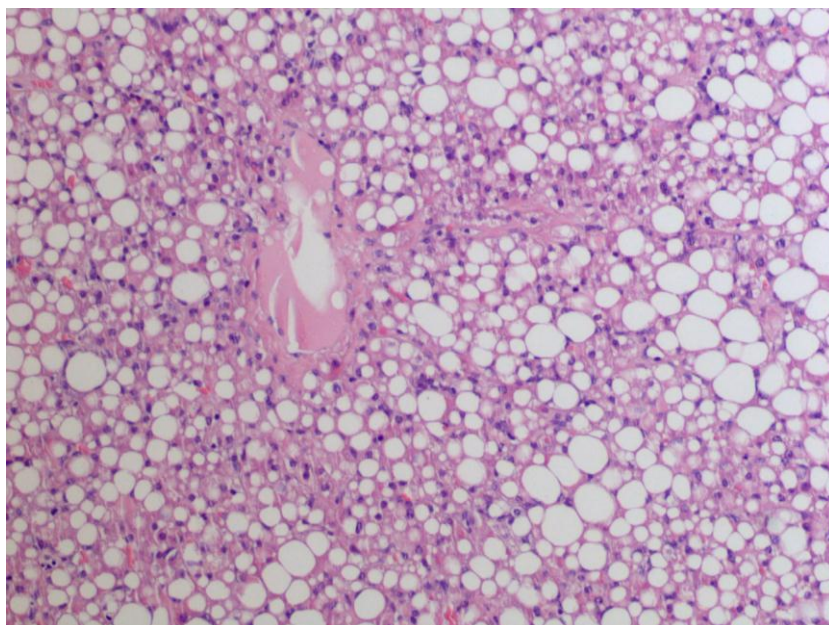


Fig. 102. Cerdo 186, perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90 %,

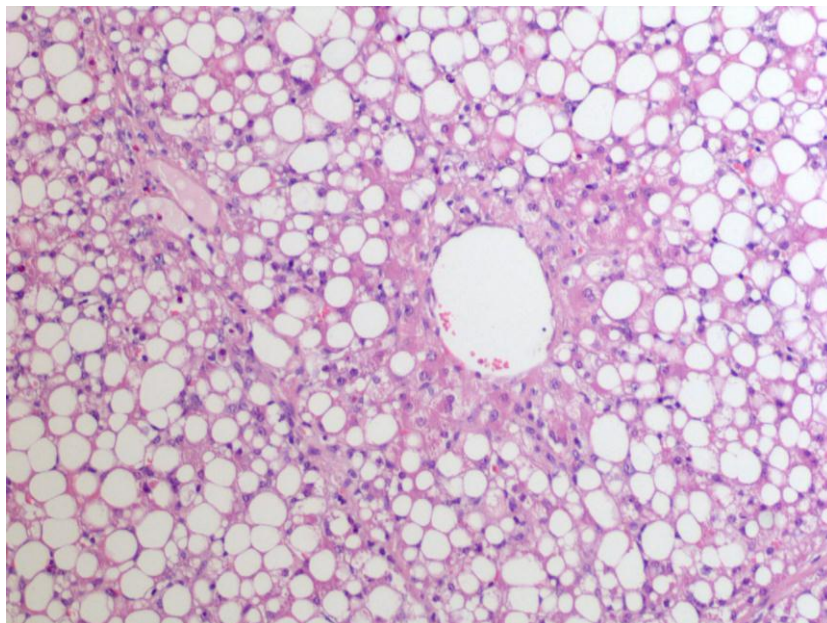


Fig. 103. Cerdo 187, perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90
%, macrogotular

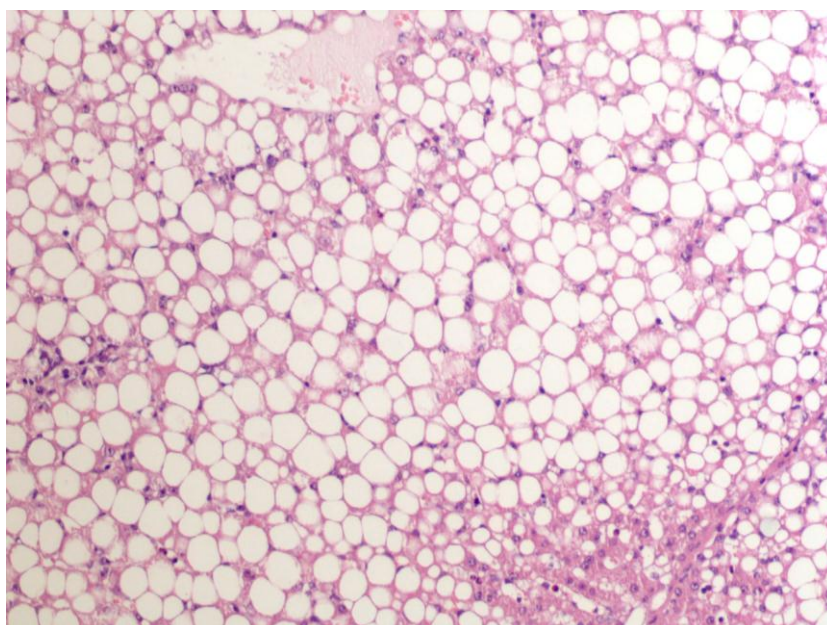


Fig. 104. Cerdo 185, perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90
%

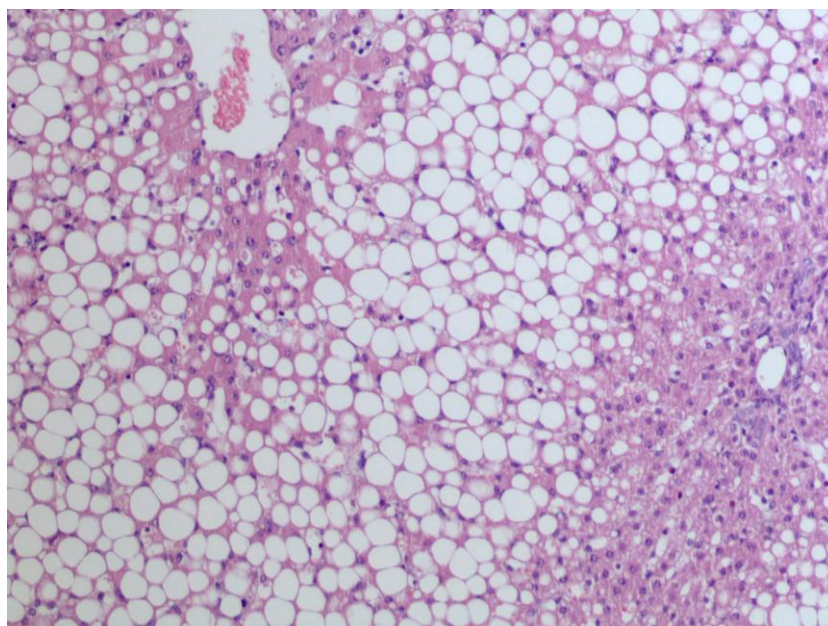


Fig. 105. Cerdo 180, perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 80 %

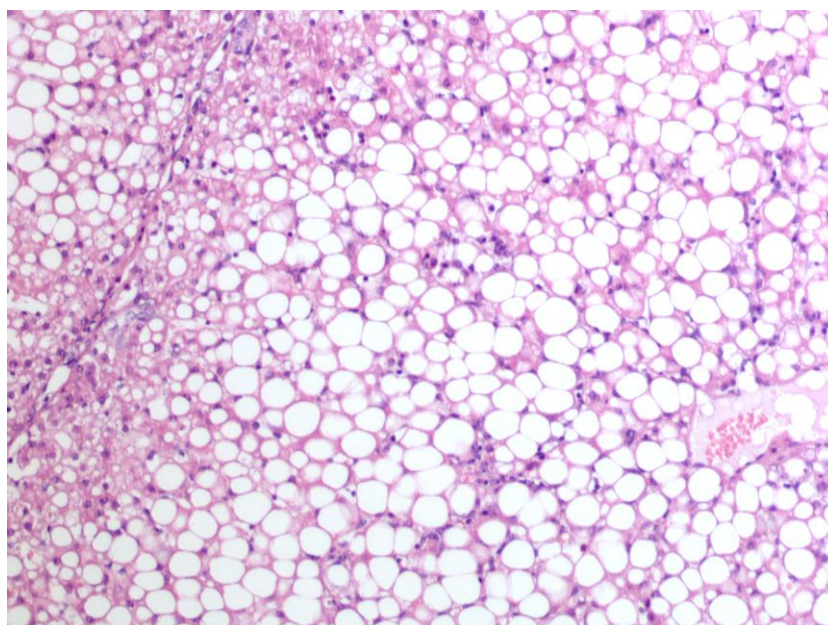


Fig.106. Cerdo 184, perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 80 %

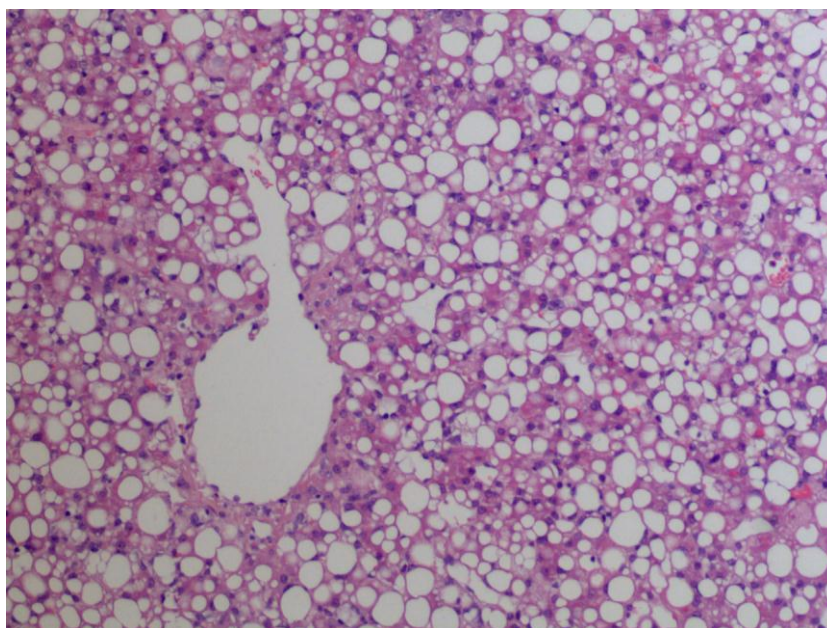


Fig.107. Cerdo 183 , perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90 %

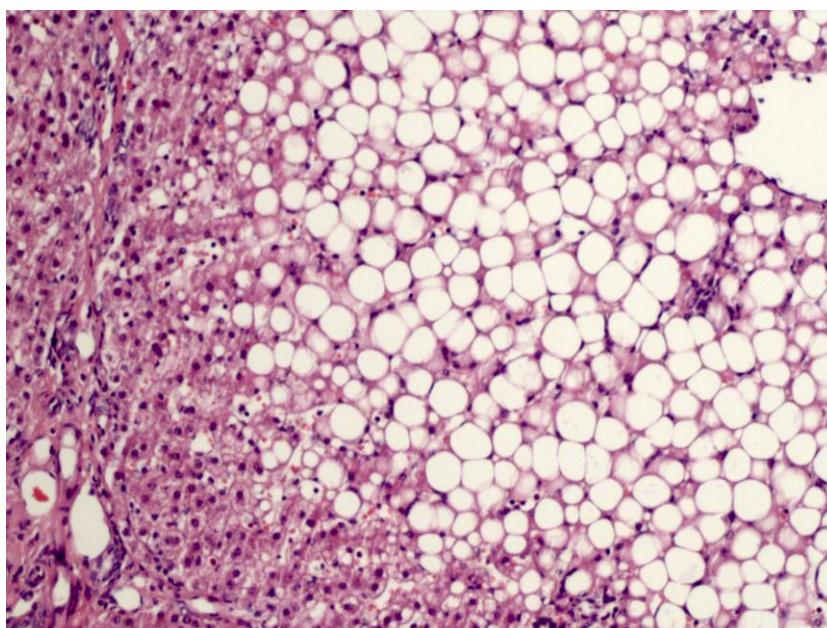


Fig.108. Cerdo 227 , perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 80 %

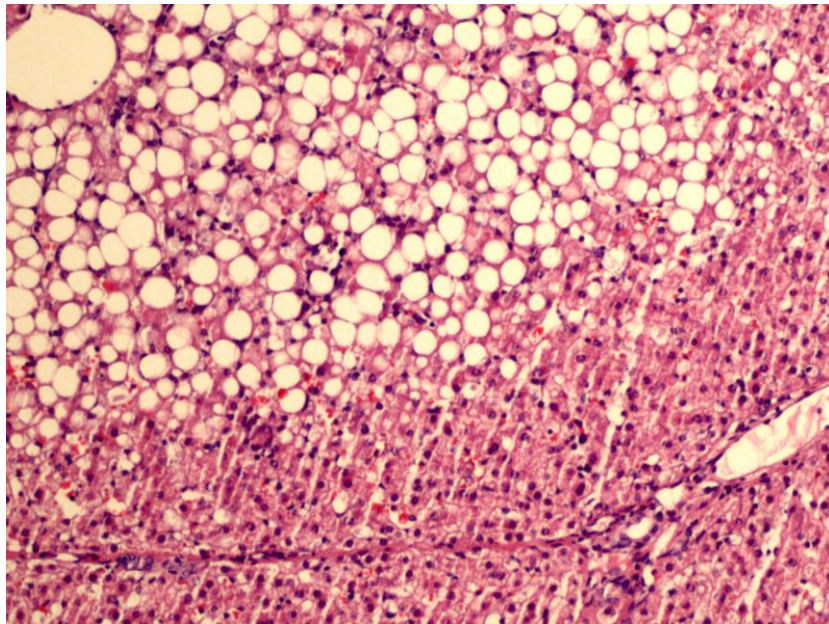


Fig.109. Cerdo 226 , perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 80 %

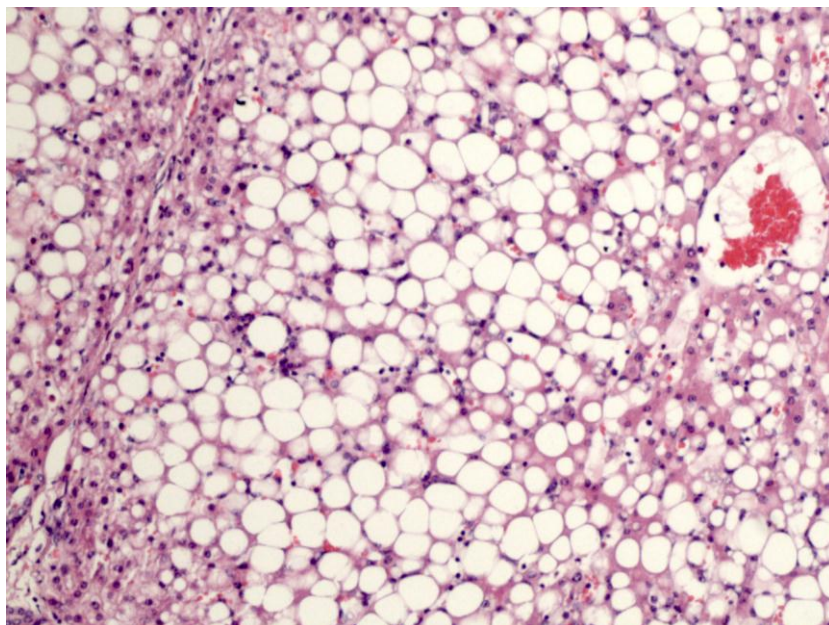


Fig.110. Cerdo 228 , perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90 %

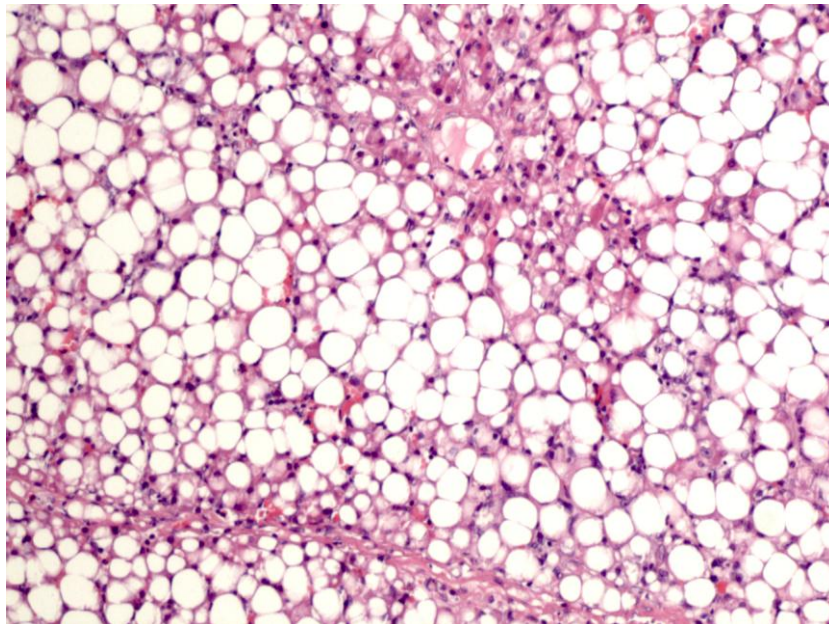


Fig.111. Cerdo 236 , perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90 %.

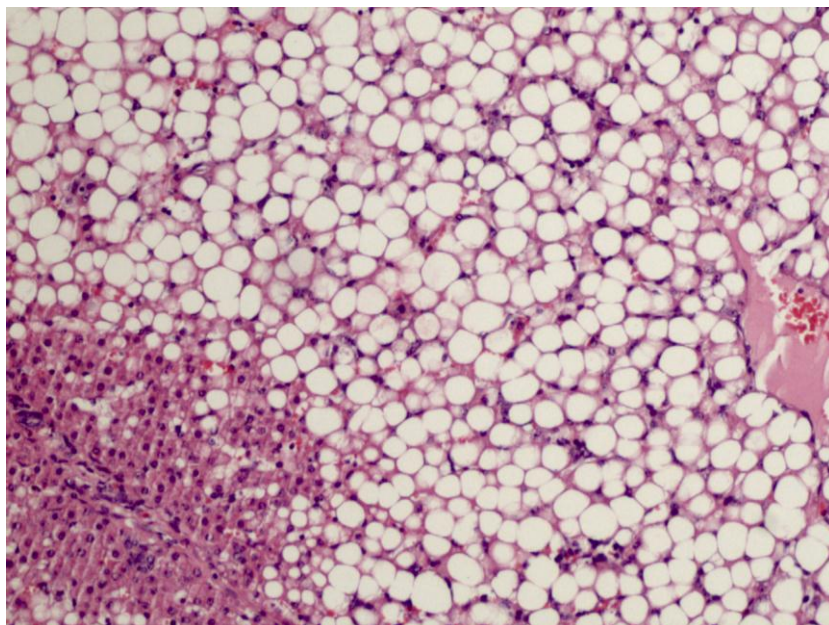


Fig.112. Cerdo 237 , perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90 %.

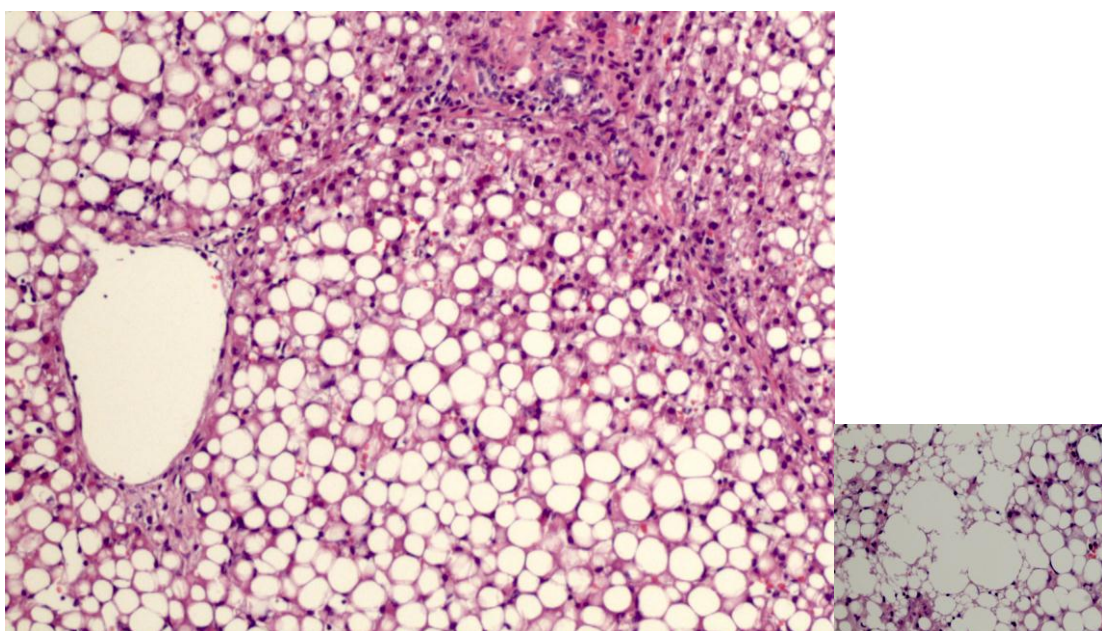


Fig.113. Cerdo 238 , perteneciente al grupo estudio. HE 10 X esteatosis hepática del 90 %, con lagos de grasa.

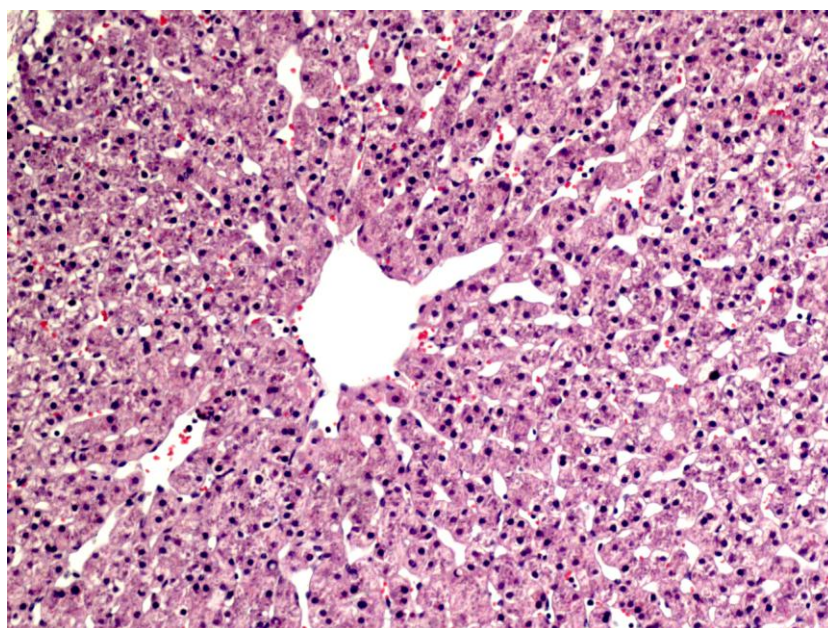


Fig. 114. Cerdo 373, perteneciente al grupo control. HE 10X esteatosis del 0 %

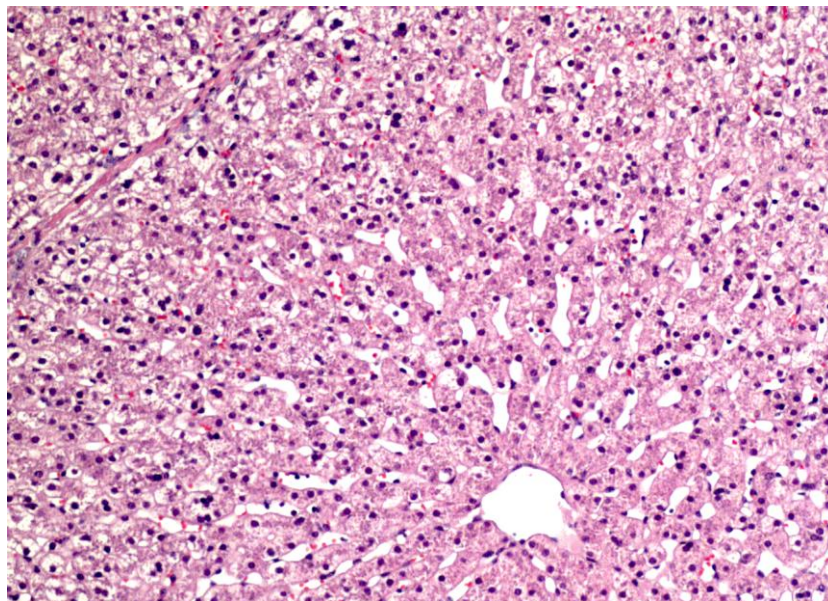


Fig. 115. Cerdo 161, perteneciente al grupo control. HE 10X esteatosis del 0 %

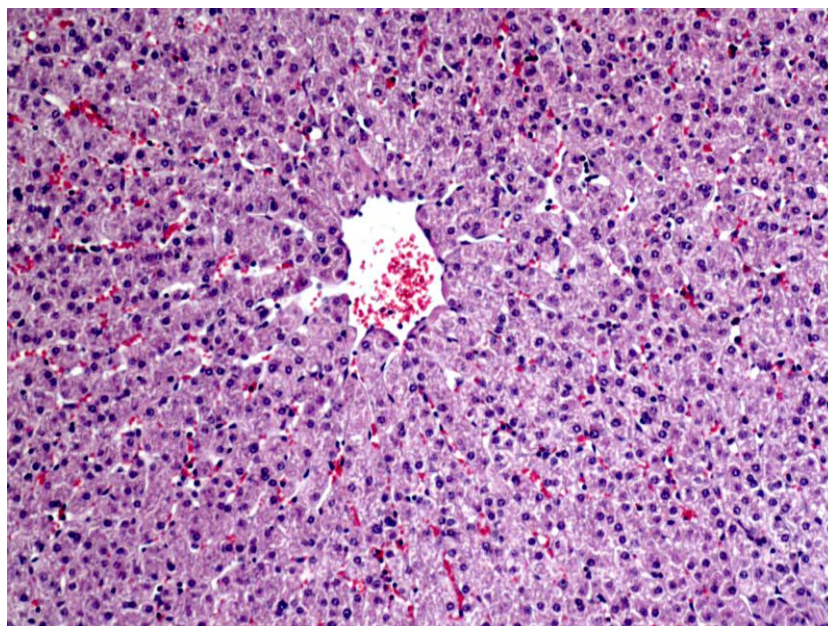


Fig. 116. Cerdo 372, perteneciente al grupo control. HE 10X esteatosis del 0 %

En resumen, la dieta especial provocó en los animales a los que fueron sometidos durante 4 meses, una esteatosis de grado variable. Ningún animal del grupo control presentó grado alguno de esteatosis.

9.3. RESULTADOS MEDICION DE BIOIMPEDANCIA

Se practicaron 4 determinaciones de la BI en cada animal (electrodo apoyado e insertado, en segmentos 3 y 4).

En cuanto al análisis eléctrico, se eliminó una medición, (la realizada en el cerdo 391, con el electrodo apoyado en el segmento 4 –ver adendum) que es considerada errónea, por estar fuera de rango de las mediciones. Es interpretada como: un error técnico, al apoyar el electrodo el contacto no fue bueno, y de ahí que los datos de impedancia sean inusualmente altos.

El aparato Impedimed SFB7 realiza en cada en cada determinación realiza la medición de BI a 256 frecuencias distintas. La relación frecuencia-resistencia se caracteriza por una distribución de morfología logarítmica, como puede verse en la siguiente figura.

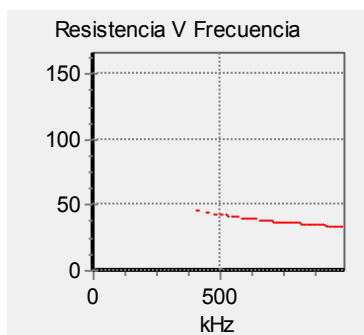


Fig. 117 Frecuencia versus resistencia, gráfica generada por el aparato Impedimed SFB7, en cada una de las mediciones.

Dada la imposibilidad técnica de analizar las 256 frecuencias, se han seleccionado 21 de ellas en cada una de las mediciones para su posterior análisis. Dado que la mayor variación de resistencia sucede en las frecuencias más pequeñas, las 12 primeras son por debajo de los 100 kHz y las 9 restantes por encima. Según aumenta la frecuencia, los resultados de la resistencia siguen una línea prácticamente paralela al eje de abscisas.

9.3.1. Medición con electrodo insertado

Se exponen a continuación diferentes tablas que muestran la bioimpedancia (Z , medida en ohmios) obtenida para cada una de las frecuencias, en cada uno de los cerdos, cuando la medición fue realizada con el electrodo insertado en los segmentos 3 y 4.

SEGMENTO 3

3,084 kHz		4,028 kHz		5,067 kHz		6,074 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	102,60	161	101,40	161	100,50	161	99,30
180	166,30	180	164,20	180	161,80	180	159,30
183	150,80	183	149,80	183	147,70	183	146,40
184	141,30	184	139,60	184	137,60	184	135,90
185	148,90	185	147,30	185	145,30	185	143,50
186	167,60	186	165,50	186	163,30	186	161,20
187	138,40	187	137,10	187	135,20	187	133,10
372	78,20	372	77,50	372	77,00	372	76,30
373	93,20	373	92,40	373	91,10	373	90,30
385	166,80	385	164,80	385	162,60	385	160,30
391	144,60	391	143,00	391	140,30	391	138,50
397	202,00	397	199,30	397	196,30	397	193,70
226	216,30	226	213,50	226	209,10	226	205,70
227	162,90	227	160,50	227	158,00	227	155,50
228	208,60	228	204,80	228	201,70	228	198,70
236	202,60	236	199,80	236	197,00	236	194,20
237	216,80	237	213,80	237	209,90	237	205,90
238	143,30	238	142,10	238	140,30	238	138,20

7,113 kHz		8,151 kHz		9,127 kHz		10,023 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	98,50	161	97,30	161	96,40	161	95,50
180	157,30	180	154,70	180	152,70	180	150,50
183	144,40	183	142,70	183	141,10	183	139,50
184	134,20	184	132,40	184	130,80	184	129,10
185	141,90	185	139,90	185	139,00	185	137,10
186	159,20	186	156,90	186	155,00	186	152,80
187	131,40	187	129,60	187	128,00	187	126,20
372	75,80	372	75,10	372	75,00	372	74,00
373	89,50	373	88,10	373	87,50	373	86,70
385	158,40	385	156,30	385	154,70	385	152,70
391	136,50	391	134,70	391	133,10	391	131,30
397	190,60	397	187,80	397	185,20	397	182,60
226	202,10	226	198,80	226	196,40	226	193,30
227	153,30	227	150,90	227	149,00	227	146,70
228	195,60	228	192,60	228	190,10	228	187,20
236	191,40	236	189,10	236	187,10	236	184,30
237	202,70	237	199,40	237	196,60	237	193,50
238	136,40	238	134,80	238	133,30	238	131,50

15,01 kHz		25,33 kHz		50,01 kHz		75,25 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	91,60	161	84,90	161	74,70	161	68,10
180	141,80	180	127,50	180	107,50	180	96,10
183	132,50	183	120,40	183	103,20	183	92,90
184	122,70	184	112,00	184	96,90	184	88,00
185	130,50	185	119,40	185	102,50	185	92,40
186	145,00	186	132,20	186	113,20	186	101,70
187	119,70	187	108,70	187	93,00	187	83,70
372	71,50	372	67,00	372	59,80	372	55,20
373	83,00	373	76,70	373	67,00	373	60,70
385	145,10	385	132,50	385	112,40	385	98,70
391	124,70	391	114,10	391	98,70	391	88,90
397	171,60	397	153,70	397	126,50	397	110,00
226	182,00	226	165,30	226	141,90	226	125,90
227	138,90	227	127,00	227	110,60	227	101,20
228	177,10	228	160,60	228	136,90	228	122,50
236	175,60	236	161,30	236	140,30	236	127,30
237	182,20	237	164,10	237	139,40	237	124,90
238	125,30	238	114,70	238	98,70	238	89,40

101,1 kHz		152,1 kHz		204,2 kHz		300,4 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	63,20	161	57,20	161	53,10	161	48,20
180	88,40	180	79,20	180	73,10	180	65,60
183	86,10	183	77,30	183	71,50	183	64,40
184	81,80	184	73,90	184	68,40	184	61,50
185	85,60	185	77,30	185	72,10	185	65,50
186	93,50	186	83,10	186	76,10	186	67,50
187	77,40	187	69,40	187	64,00	187	57,20
372	51,60	372	47,20	372	44,00	372	40,30
373	56,20	373	50,60	373	46,90	373	42,50
385	89,10	385	76,60	385	68,60	385	59,50
391	81,90	391	72,90	391	66,90	391	59,80
397	99,00	397	85,40	397	76,70	397	66,80
226	114,70	226	100,90	226	91,90	226	80,30
227	94,60	227	85,90	227	80,10	227	72,10
228	112,50	228	99,50	228	90,80	228	90,10
236	118,20	236	105,90	236	97,50	236	86,70
237	124,20	237	115,10	237	102,20	237	93,60
238	82,80	238	74,40	238	68,70	238	61,20

403,5 kHz		506,2 kHz		711,15 kHz		913,2 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	44,70	161	42,30	161	38,60	161	35,90
180	60,00	180	55,70	180	49,10	180	43,80
183	59,00	183	54,80	183	48,40	183	43,20
184	56,10	184	51,80	184	44,80	184	39,50
185	60,90	185	57,30	185	51,60	185	47,20
186	61,10	186	56,20	186	48,80	186	43,30
187	52,20	187	48,20	187	42,20	187	37,60
372	37,50	372	35,40	372	32,00	372	29,50
373	39,30	373	36,90	373	33,60	373	31,20
385	53,30	385	49,10	385	43,40	385	39,80
391	54,40	391	50,60	391	45,10	391	41,00
397	59,90	397	55,10	397	48,30	397	43,20
226	72,40	226	66,40	226	66,40	226	50,40
227	65,80	227	60,70	227	60,70	227	46,20
228	79,70	228	71,30	228	71,30	228	54,50
236	78,60	236	72,10	236	72,10	236	54,60
237	82,70	237	74,40	237	74,40	237	58,20
238	55,60	238	51,10	238	51,10	238	38,70

1000 kHz	
Cerdo	Z (Ω)
161	34,90
180	41,50
183	41,40
184	37,70
185	45,80
186	41,30
187	36,10
372	28,50
373	30,40
385	39,10
391	39,50
397	41,60
226	48,00
227	43,80
228	46,90
236	51,80
237	50,90
238	36,80

SEGMENTO 4

3,084 kHz		4,028 kHz		5,067 kHz		6,074 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	102,10	161	101,20	161	99,60	161	98,60
180	182,90	180	179,80	180	177,10	180	173,30
183	157,80	183	156,00	183	153,70	183	151,80
184	178,90	184	176,90	184	174,90	184	172,50
185	137,70	185	136,00	185	134,40	185	132,80
186	160,60	186	159,00	186	156,90	186	154,90
187	144,40	187	142,80	187	141,70	187	139,50
372	88,30	372	87,50	372	86,60	372	85,80
373	91,30	373	90,20	373	88,90	373	88,00
385	178,90	385	176,70	385	174,70	385	172,70
391	103,60	391	102,20	391	100,80	391	99,60
397	136,10	397	134,80	397	133,80	397	132,00
226	246,00	226	242,50	226	239,80	226	237,30
227	185,10	227	181,70	227	178,00	227	175,20
228	167,10	228	165,10	228	163,10	228	161,10
236	330,40	236	324,10	236	318,60	236	313,00
237	199,50	237	195,70	237	191,90	237	188,80
238	206,10	238	202,80	238	199,90	238	197,20

7,113 kHz		8,151 kHz		9,127 kHz		10,023 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	97,30	161	96,20	161	95,50	161	94,60
180	170,50	180	167,70	180	165,20	180	162,00
183	149,40	183	147,50	183	145,80	183	143,70
184	169,70	184	167,80	184	166,30	184	164,00
185	131,20	185	129,50	185	128,30	185	126,50
186	152,80	186	151,30	186	149,70	186	147,90
187	137,80	187	136,50	187	134,70	187	133,50
372	85,50	372	84,00	372	83,00	372	82,20
373	87,00	373	86,00	373	85,00	373	84,20
385	170,80	385	168,70	385	166,90	385	164,80
391	98,70	391	97,50	391	96,50	391	95,30
397	130,50	397	129,00	397	127,50	397	126,00
226	234,40	226	231,70	226	196,40	226	225,40
227	172,20	227	169,70	227	149,00	227	164,90
228	158,90	228	157,20	228	190,10	228	153,70
236	308,40	236	303,60	236	187,10	236	295,00
237	185,40	237	182,50	237	196,60	237	176,90
238	194,20	238	191,70	238	133,30	238	186,90

15,01 kHz		25,33 kHz		50,01 kHz		75,25 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	90,70	161	84,20	161	74,30	161	68,00
180	151,70	180	135,10	180	112,10	180	99,20
183	136,10	183	122,50	183	103,40	183	92,60
184	156,20	184	144,00	184	126,10	184	115,60
185	120,10	185	108,90	185	92,60	185	83,00
186	141,30	186	130,50	186	113,70	186	103,30
187	127,20	187	117,10	187	102,10	187	93,20
372	78,60	372	72,80	372	63,50	372	57,60
373	80,80	373	75,00	373	66,10	373	60,50
385	157,20	385	144,70	385	124,30	385	110,20
391	91,40	391	85,10	391	74,90	391	68,10
397	120,20	397	110,00	397	94,00	397	83,60
226	213,60	226	193,10	226	161,70	226	143,60
227	155,40	227	141,20	227	121,80	227	110,70
228	146,60	228	134,10	228	115,20	228	103,80
236	279,20	236	253,70	236	216,30	236	194,30
237	165,80	237	149,20	237	126,10	237	112,70
238	177,70	238	162,40	238	141,00	238	128,20

101,1 kHz		152,1 kHz		204,2 kHz		300,4 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	97,30	161	57,50	161	53,40	161	48,60
180	170,50	180	80,20	180	73,50	180	65,20
183	149,40	183	75,90	183	69,60	183	61,80
184	169,70	184	99,40	184	93,30	184	85,40
185	131,20	185	68,50	185	63,10	185	56,80
186	152,80	186	85,80	186	79,20	186	71,20
187	137,80	187	79,50	187	74,20	187	67,70
372	85,50	372	48,30	372	45,00	372	40,70
373	87,00	373	51,30	373	47,70	373	43,20
385	170,80	385	86,70	385	78,00	385	67,60
391	98,70	391	56,50	391	52,00	391	46,60
397	130,50	397	67,00	397	61,10	397	54,00
226	131,50	226	116,30	226	106,00	226	93,30
227	103,30	227	93,40	227	86,40	227	77,40
228	95,70	228	85,40	228	78,50	228	69,60
236	179,00	236	158,50	236	144,20	236	125,20
237	103,80	237	92,20	237	84,40	237	74,50
238	119,40	238	107,90	238	100,20	238	90,20

403,5 kHz		506,2 kHz		711,15 kHz		913,2 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	45,10	161	42,80	161	39,10	161	36,50
180	59,10	180	54,20	180	47,00	180	41,30
183	56,00	183	51,30	183	44,50	183	39,30
184	79,40	184	74,50	184	66,40	184	59,90
185	52,00	185	48,20	185	42,60	185	38,10
186	65,10	186	60,40	186	53,40	186	48,10
187	62,90	187	59,10	187	53,30	187	48,60
372	37,70	372	35,50	372	32,00	372	29,50
373	39,90	373	37,50	373	33,60	373	30,90
385	60,70	385	55,70	385	49,20	385	44,80
391	43,00	391	40,20	391	36,30	391	33,20
397	49,30	397	45,80	397	40,80	397	37,00
226	83,80	226	76,40	226	65,70	226	58,00
227	69,90	227	63,90	227	54,70	227	47,60
228	63,00	228	57,60	228	49,40	228	43,30
236	111,50	236	101,00	236	84,60	236	72,10
237	67,10	237	61,20	237	52,30	237	45,70
238	82,50	238	76,40	238	66,80	238	59,50

1000 kHz	
Cerdo	Z (Ω)
161	35,60
180	39,30
183	37,10
184	57,40
185	36,60
186	46,00
187	47,00
372	28,50
373	29,50
385	43,70
391	32,40
397	36,30
226	55,20
227	45,00
228	41,00
236	67,50
237	43,30
238	56,90

Tabla 25. Resistencias en función de la frecuencia, electrodo insertado

9.3.2. Medición con electrodo apoyado

Se exponen a continuación diferentes tablas que muestran la resistencia obtenida para cada una de las frecuencias, en cada uno de los cerdos, cuando la medición se realizaba con el electrodo apoyado en cada uno de los segmentos previstos (3 y 4).

SEGMENTO 3

3,084 kHz		4,028 kHz		5,067 kHz		6,074 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	157,50	161	156,00	161	154,70	161	152,80
180	296,50	180	291,40	180	285,70	180	279,10
183	324,10	183	321,30	183	316,30	183	312,10
184	270,70	184	266,10	184	260,70	184	255,80
185	342,80	185	338,30	185	331,40	185	325,50
186	296,50	186	292,20	186	287,80	186	283,40
187	322,10	187	315,80	187	310,40	187	304,10
372	142,40	372	141,30	372	139,90	372	138,80
373	224,90	373	222,10	373	218,20	373	215,20
385	277,30	385	271,90	385	266,80	385	260,90
391	-----	391	-----	391	-----	391	-----
397	244,80	397	240,80	397	237,90	397	233,70
226	462,50	226	454,40	226	446,40	226	436,00
227	325,90	227	320,20	227	314,50	227	308,20
228	415,20	228	407,20	228	400,40	228	392,20
236	397,90	236	391,60	236	383,00	236	373,90
237	374,60	237	366,40	237	359,20	237	352,20
238	315,90	238	311,40	238	306,00	238	300,10

7,113 kHz		8,151 kHz		9,127 kHz		10,023 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	151,10	161	149,20	161	147,70	161	146,10
180	274,00	180	268,70	180	263,90	180	259,00
183	307,70	183	304,30	183	298,40	183	295,20
184	251,40	184	246,40	184	242,70	184	238,60
185	319,90	185	314,20	185	309,30	185	303,60
186	279,30	186	274,80	186	271,00	186	266,80
187	298,80	187	293,10	187	288,70	187	283,90
372	137,70	372	136,10	372	135,00	372	133,60
373	212,10	373	209,00	373	206,60	373	203,40
385	255,50	385	251,30	385	246,90	385	242,20
391	-----	391	-----	391	-----	391	-----
397	229,50	397	226,50	397	223,40	397	220,00
226	427,50	226	417,80	226	410,20	226	402,40
227	302,80	227	297,50	227	292,40	227	287,50
228	385,40	228	378,10	228	371,40	228	364,80
236	367,00	236	359,10	236	352,60	236	345,90
237	346,30	237	338,90	237	333,10	237	326,80
238	295,00	238	290,50	238	286,10	238	281,10

15,01 kHz		25,33 kHz		50,01 kHz		75,25 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	139,10	161	127,40	161	108,70	161	96,80
180	240,70	180	209,30	180	167,20	180	143,90
183	278,70	183	250,60	183	208,40	183	183,30
184	222,30	184	196,30	184	160,20	184	139,60
185	281,70	185	247,60	185	197,70	185	169,60
186	251,30	186	224,80	186	185,90	186	162,20
187	262,90	187	230,40	187	185,40	187	159,90
372	128,60	372	118,00	372	101,60	372	90,90
373	192,00	373	172,40	373	143,20	373	125,10
385	225,00	385	197,80	385	157,40	385	132,80
391	-----	391	-----	391	-----	391	-----
397	207,80	397	185,60	397	151,40	397	129,80
226	373,40	226	323,00	226	246,30	226	203,10
227	269,00	227	239,90	227	199,90	227	177,10
228	340,50	228	300,10	228	242,10	228	207,90
236	321,20	236	281,40	236	227,60	236	195,80
237	303,50	237	268,70	237	218,40	237	189,90
238	263,70	238	235,10	238	195,20	238	171,40

101,1 kHz		152,1 kHz		204,2 kHz		300,4 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	88,40	161	77,60	161	70,60	161	62,20
180	128,70	180	110,10	180	98,10	180	83,60
183	166,00	183	144,00	183	129,40	183	111,50
184	125,90	184	108,30	184	96,50	184	81,80
185	151,20	185	128,30	185	113,60	185	95,80
186	145,70	186	124,30	186	110,20	186	93,30
187	142,90	187	121,40	187	107,20	187	89,70
372	83,50	372	73,90	372	67,60	372	59,70
373	112,70	373	96,90	373	86,60	373	74,30
385	115,90	385	94,90	385	82,00	385	67,40
391	-----	391	-----	391	-----	391	-----
397	115,20	397	96,60	397	84,90	397	71,50
226	176,60	226	143,20	226	119,40	226	89,10
227	161,30	227	140,40	227	125,30	227	105,40
228	184,60	228	154,00	228	133,20	228	107,10
236	174,10	236	145,60	236	126,70	236	103,30
237	170,20	237	144,60	237	127,50	237	106,00
238	155,20	238	133,80	238	119,20	238	100,60

403,5 kHz		506,2 kHz		711,15 kHz		913,2 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	56,40	161	52,50	161	45,90	161	41,60
180	73,10	180	65,10	180	53,00	180	44,40
183	98,10	183	88,00	183	72,80	183	61,70
184	70,80	184	62,20	184	49,90	184	41,20
185	82,80	185	73,20	185	59,10	185	49,10
186	80,90	186	71,90	186	58,50	186	49,20
187	77,20	187	67,80	187	54,30	187	44,90
372	54,30	372	50,10	372	43,90	372	39,40
373	65,70	373	59,60	373	50,50	373	44,30
385	57,80	385	51,30	385	42,80	385	37,40
391	-----	391	-----	391	-----	391	-----
397	62,40	397	52,70	397	47,40	397	41,20
226	73,10	226	61,70	226	49,60	226	40,10
227	89,80	227	78,00	227	60,30	227	48,20
228	88,30	228	74,40	228	55,40	228	43,20
236	86,70	236	74,60	236	57,70	236	46,70
237	90,30	237	78,60	237	61,90	237	50,50
238	86,90	238	76,40	238	61,10	238	50,50

1000 kHz	
Cerdo	Z (Ω)
161	40,10
180	41,60
183	57,40
184	38,10
185	45,70
186	46,00
187	42,50
372	37,80
373	42,00
385	35,60
391	-----
397	39,10
226	48,00
227	43,80
228	46,90
236	51,80
237	50,90
238	36,80

SEGMENTO 4

3,084 kHz		4,028 kHz		5,067 kHz		6,074 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	166,10	161	163,90	161	161,60	161	159,30
180	314,20	180	307,40	180	301,60	180	294,80
183	351,90	183	347,60	183	340,40	183	334,50
184	279,40	184	273,90	184	268,50	184	263,90
185	310,60	185	305,20	185	298,50	185	292,40
186	256,60	186	253,40	186	250,10	186	246,50
187	315,40	187	310,50	187	304,00	187	296,30
372	175,50	372	174,30	372	172,00	372	170,00
373	167,30	373	165,20	373	163,40	373	160,80
385	280,10	385	275,60	385	270,20	385	264,80
391	251,40	391	246,20	391	240,40	391	235,90
397	274,50	397	270,30	397	265,70	397	261,80
226	433,60	226	424,90	226	414,40	226	412,60
227	312,90	227	305,20	227	299,50	227	292,90
228	300,40	228	295,50	228	291,00	228	286,00
236	336,70	236	331,90	236	324,60	236	318,80
237	313,50	237	307,60	237	301,60	237	296,30
238	232,40	238	229,20	238	225,10	238	221,40

7,113 kHz		8,151 kHz		9,127 kHz		10,023 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	157,20	161	154,80	161	152,90	161	150,70
180	289,80	180	283,20	180	278,10	180	272,60
183	327,70	183	322,50	183	317,00	183	311,10
184	259,00	184	254,30	184	250,10	184	245,40
185	286,50	185	281,20	185	277,00	185	271,30
186	243,40	186	239,70	186	236,60	186	233,30
187	290,40	187	284,00	187	278,60	187	272,00
372	168,20	372	166,30	372	165,00	372	163,00
373	158,30	373	156,30	373	154,40	373	152,00
385	259,20	385	255,20	385	251,30	385	246,40
391	231,10	391	226,70	391	222,80	391	218,50
397	258,10	397	253,40	397	249,80	397	245,70
226	402,40	226	393,70	226	386,70	226	380,10
227	286,80	227	281,70	227	276,70	227	271,40
228	281,40	228	277,20	228	273,00	228	268,70
236	312,40	236	307,20	236	301,90	236	296,40
237	291,20	237	286,10	237	281,50	237	276,80
238	217,80	238	214,50	238	211,70	238	208,50

15,01 kHz		25,33 kHz		50,01 kHz		75,25 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	142,20	161	128,60	161	108,30	161	95,70
180	251,40	180	218,90	180	174,20	180	149,50
183	288,90	183	253,40	183	204,70	183	177,70
184	228,30	184	200,10	184	162,90	184	141,80
185	251,30	185	218,70	185	173,70	185	148,40
186	220,60	186	199,40	186	166,40	186	146,00
187	250,60	187	217,20	187	172,50	187	148,30
372	156,00	372	144,00	372	124,70	372	112,20
373	144,00	373	130,60	373	110,20	373	97,50
385	229,60	385	202,30	385	160,80	385	135,30
391	202,40	391	178,10	391	143,40	391	123,00
397	230,30	397	204,50	397	165,60	397	141,40
226	373,20	226	345,90	226	298,20	226	234,30
227	252,00	227	222,80	227	184,30	227	162,50
228	252,00	228	225,00	228	185,80	228	162,00
236	275,90	236	243,30	236	197,80	236	171,30
237	259,00	237	230,10	237	190,20	237	166,40
238	196,10	238	176,50	238	149,00	238	132,60

101,1 kHz		152,1 kHz		204,2 kHz		300,4 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	86,80	161	75,50	161	68,00	161	59,20
180	133,50	180	113,90	180	101,20	180	86,10
183	159,80	183	137,70	183	123,20	183	105,60
184	127,90	184	110,10	184	98,20	184	83,00
185	132,10	185	112,10	185	99,60	185	84,20
186	131,70	186	112,90	186	100,60	186	85,40
187	132,60	187	112,80	187	99,90	187	84,10
372	103,90	372	93,20	372	86,10	372	77,20
373	88,70	373	77,30	373	69,80	373	60,60
385	117,80	385	96,30	385	82,70	385	67,70
391	109,00	391	91,20	391	79,90	391	66,60
397	125,10	397	104,60	397	91,80	397	77,10
226	198,40	226	173,80	226	142,70	226	122,10
227	147,60	227	128,30	227	114,60	227	96,90
228	145,60	228	124,20	228	109,70	228	91,80
236	153,20	236	130,00	236	114,30	236	94,80
237	150,10	237	128,80	237	114,20	237	95,90
238	121,20	238	106,20	238	95,70	238	82,10

403,5 kHz		506,2 kHz		711,15 kHz		913,2 kHz	
Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)	Cerdo	Z (Ω)
161	52,90	161	48,30	161	42,30	161	37,90
180	75,10	180	66,80	180	54,60	180	45,90
183	93,00	183	83,20	183	69,20	183	58,90
184	71,80	184	63,00	184	49,80	184	40,70
185	73,40	185	65,10	185	53,20	185	44,70
186	74,60	186	66,70	186	54,80	186	46,50
187	72,70	187	64,30	187	51,80	187	43,10
372	70,30	372	65,20	372	57,50	372	51,60
373	54,00	373	48,90	373	41,90	373	36,80
385	57,90	385	51,20	385	42,60	385	37,10
391	57,80	391	51,50	391	43,00	391	37,20
397	67,20	397	60,30	397	50,70	397	44,00
226	98,40	226	83,10	226	71,80	226	56,50
227	83,20	227	72,50	227	56,60	227	45,60
228	78,60	228	68,50	228	54,00	228	44,20
236	80,80	236	70,20	236	55,40	236	45,30
237	82,30	237	71,80	237	56,90	237	46,60
238	71,70	238	63,50	238	51,30	238	42,40

1000 kHz	
Cerdo	Z (Ω)
161	36,30
180	43,10
183	54,80
184	37,30
185	41,70
186	43,70
187	41,10
372	49,70
373	35,00
385	35,60
391	35,40
397	41,90
226	46,40
227	41,80
228	40,80
236	41,90
237	43,10
238	39,40

Tabla 26. Resistencias obtenidas en función de la frecuencia, electrodo apoyado

La distribución de la impedancia respecto a cada una de las frecuencias (en función del segmento y del tipo de medición – insertado o apoyado-) sigue en todos los casos una distribución normal.

Segmento/método	Frecuencia	Z de KOLMOGOROV- SMIRNOF	Significación asintótica bilateral	Distribución de contraste
3/insertado	3,0840	0,618	0,839	Normal
3/insertado	4,0280	0,628	0,825	Normal
3/insertado	5,0670	0,627	0,826	Normal
3/insertado	6,0740	0,614	0,845	Normal
3/insertado	7,1130	0,612	0,849	Normal
3/insertado	8,1510	0,611	0,849	Normal
3/insertado	9,1270	0,601	0,864	Normal
3/insertado	10,0230	0,596	0,870	Normal
3/insertado	15,0100	0,581	0,880	Normal
3/insertado	25,3300	0,543	0,929	Normal
3/insertado	50,0100	0,506	0,960	Normal
3/insertado	75,2500	0,558	0,914	Normal
3/insertado	101,1000	0,591	0,876	Normal
3/insertado	152,1000	0,593	0,873	Normal
3/insertado	204,2000	0,553	0,920	Normal
3/insertado	300,4000	0,739	0,645	Normal
3/insertado	403,5000	0,748	0,631	Normal
3/insertado	506,2000	0,590	0,887	Normal
3/insertado	711,5000	0,619	0,838	Normal
3/insertado	913,2000	0,579	0,891	Normal
3/insertado	1000,0000	0,519	0,950	Normal

Tabla 27. Distribución de impedancia en cada frecuencia en el caso de medición con el electrodo insertado en segmento 3.

Segmento/método	Frecuencia	Z de KOLMOGOROV- SMIRNOF	Significación asintótica bilateral	Distribución de contraste
4/insertado	3,0840	0,653	0,788	Normal
4/insertado	4,0280	0,671	0,758	Normal
4/insertado	5,0670	0,704	0,705	Normal
4/insertado	6,0740	0,712	0,692	Normal
4/insertado	7,1130	0,728	0,665	Normal
4/insertado	8,1510	0,735	0,653	Normal
4/insertado	9,1270	0,746	0,634	Normal
4/insertado	10,0230	0,748	0,630	Normal
4/insertado	15,0100	0,723	0,673	Normal
4/insertado	25,3300	0,743	0,639	Normal
4/insertado	50,0100	0,812	0,525	Normal
4/insertado	75,2500	0,711	0,693	Normal
4/insertado	101,1000	0,629	0,824	Normal
4/insertado	152,1000	0,586	0,882	Normal
4/insertado	204,2000	0,568	0,904	Normal
4/insertado	300,4000	0,516	0,953	Normal
4/insertado	403,5000	0,540	0,933	Normal
4/insertado	506,2000	0,604	0,859	Normal
4/insertado	711,5000	0,680	0,745	Normal
4/insertado	913,2000	0,676	0,751	Normal
4/insertado	1000,0000	0,585	0,883	Normal

Tabla 28. Distribución de impedancia en cada frecuencia en el caso de medición con el electrodo insertado en segmento 4.

Segmento/método	Frecuencia	Z de KOLMOGOROV- SMIRNOF	Significación asintótica bilateral	Distribución de contraste
3/apoyado	3,0840	0,452	0,987	Normal
3/apoyado	4,0280	0,437	0,991	Normal
3/apoyado	5,0670	0,423	0,994	Normal
3/apoyado	6,0740	0,401	0,997	Normal
3/apoyado	7,1130	0,395	0,998	Normal
3/apoyado	8,1510	0,378	0,999	Normal
3/apoyado	9,1270	0,378	0,999	Normal
3/apoyado	10,0230	0,374	0,999	Normal
3/apoyado	15,0100	0,388	0,998	Normal
3/apoyado	25,3300	0,387	0,998	Normal
3/apoyado	50,0100	0,491	0,969	Normal
3/apoyado	75,2500	0,472	0,979	Normal
3/apoyado	101,1000	0,462	0,983	Normal
3/apoyado	152,1000	0,602	0,862	Normal
3/apoyado	204,2000	0,609	0,852	Normal
3/apoyado	300,4000	0,501	0,963	Normal
3/apoyado	403,5000	0,568	0,903	Normal
3/apoyado	506,2000	0,571	0,901	Normal
3/apoyado	711,5000	0,434	0,992	Normal
3/apoyado	913,2000	0,562	0,911	Normal
3/apoyado	1000,0000	0,598	0,867	Normal

Tabla 29. Distribución de impedancia en cada frecuencia en el caso de medición con el electrodo apoyado en segmento 3.

Segmento/método	Frecuencia	Z de KOLMOGOROV- SMIRNOF	Significación asintótica bilateral	Distribución de contraste
4/apoyado	3,0840	0,609	0,853	Normal
4/apoyado	4,0280	0,595	0,871	Normal
4/apoyado	5,0670	0,600	0,865	Normal
4/apoyado	6,0740	0,663	0,771	Normal
4/apoyado	7,1130	0,647	0,796	Normal
4/apoyado	8,1510	0,641	0,805	Normal
4/apoyado	9,1270	0,638	0,810	Normal
4/apoyado	10,0230	0,627	0,826	Normal
4/apoyado	15,0100	0,659	0,778	Normal
4/apoyado	25,3300	0,679	0,746	Normal
4/apoyado	50,0100	0,657	0,782	Normal
4/apoyado	75,2500	0,574	0,896	Normal
4/apoyado	101,1000	0,573	0,898	Normal
4/apoyado	152,1000	0,621	0,836	Normal
4/apoyado	204,2000	0,560	0,912	Normal
4/apoyado	300,4000	0,532	0,939	Normal
4/apoyado	403,5000	0,564	0,908	Normal
4/apoyado	506,2000	0,665	0,769	Normal
4/apoyado	711,5000	0,799	0,546	Normal
4/apoyado	913,2000	0,906	0,384	Normal
4/apoyado	1000,0000	0,740	0,644	Normal

Tabla 30. Distribución de impedancia en cada frecuencia en el caso de medición con el electrodo apoyado en segmento 4.

9.4. CORRELACIÓN

En cada una de las localizaciones (segmento 3 y segmento 4) y en tanto con el electrodo insertado como apoyado, se analizará la correlación existente entre la impedancia hallada y la esteatosis.

9.4.1. Mediciones realizadas con el electrodo insertado

SEGMENTO 4

CORRELACIÓN IMPEDANCIA-ESTEATOSIS EN FUNCIÓN DE LA FRECUENCIA
SEGMENTO 4 INSERTADO

FRECUENCIA	CORRELACIÓN DE PEARSON	SIGNIFICACIÓN
3,084	0,611	0,007
4,028	0,612	0,007
5,067	0,611	0,007
6,074	0,611	0,007
7,113	0,609	0,007
8,151	0,611	0,007
9,127	0,610	0,007
10,23	0,609	0,007
15,01	0,605	0,008
25,33	0,595	0,009
50,01	0,583	0,011
75,25	0,579	0,012
101,1	0,578	0,012
152,1	0,576	0,012
204,2	0,576	0,012
300,4	0,576	0,012
403,5	0,570	0,014
506,2	0,558	0,016
711,5	0,538	0,021
913,2	0,508	0,031
1000	0,595	0,037

La correlación es significativa al nivel 0,05 bilateral

Tabla 31. Correlación de Pearson y su nivel de significación a las 21 frecuencias estudiadas, en las mediciones en el segmento 4 con el electrodo insertado.

En este grupo, las mejores correlaciones corresponden 4,028 kHz.

Lobulo = 4, Insertado, Frecuencia = 4,028
Modelo lineal

Modelo lineal

Resumen del modelo ^a			
R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,804	,647	,624	21,906
La variable independiente es impedancia			

ANOVA^a

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	13199,060	1	13199,060	27,506	,000
Residual	7197,999	15	479,867		
Total	20397,059	16			

La variable independiente es Impedancia.

Coeficientes ^a					
	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Resistencia	,349	,067	,804	5,245	,000
(Constante)	-43,090	20,687		-2,083	,055

La fórmula de regresión lineal de este modelo sería:

$$Y = -43,09 + 0,349 X \quad Y = \text{esteatosis} \quad X = \text{impedancia}$$

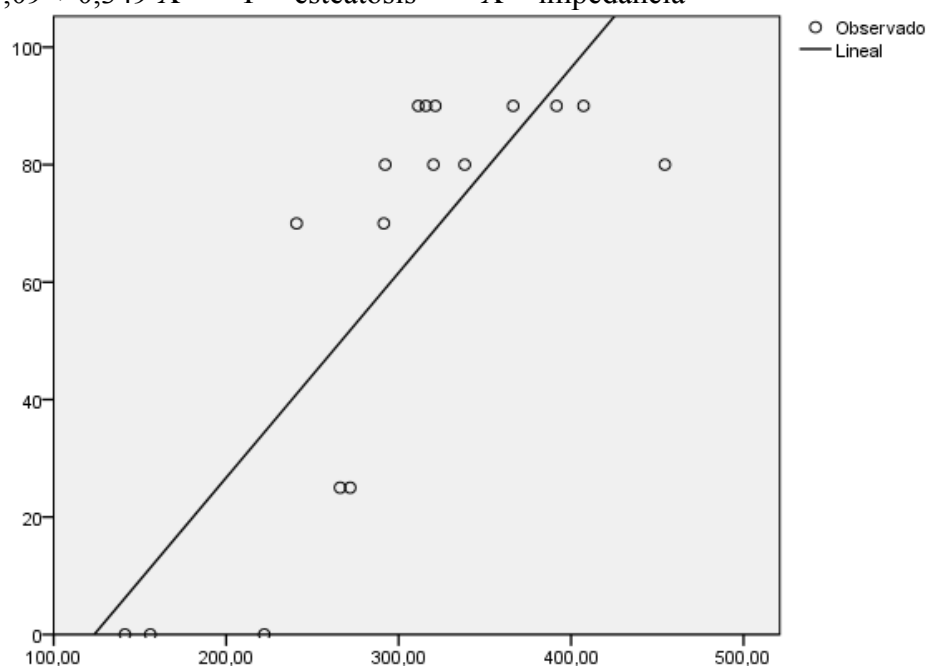


Fig. 118. Correlación impedancia (abscisas) y esteatosis (ordenadas) a 4,028 kHz, medición en el segmento 4 con el electrodo insertado.

SEGMENTO 3

CORRELACIÓN IMPEDANCIA-ESTEATOSIS EN FUNCIÓN DE LA FRECUENCIA

SEGMENTO 3 INSERTADO

FRECUENCIA	CORRELACIÓN DE PEARSON	SIGNIFICACIÓN
3,084	0,719	0,001
4,028	0,721	0,001
5,067	0,723	0,001
6,074	0,723	0,001
7,113	0,723	0,001
8,151	0,729	0,001
9,127	0,724	0,001
10,23	0,723	0,001
15,01	0,729	0,001
25,33	0,722	0,001
50,01	0,722	0,001
75,25	0,732	0,001
101,1	0,734	0,001
152,1	0,740	0,000
204,2	0,756	0,000
300,4	0,748	0,000
403,5	0,759	0,000
506,2	0,763	0,000
711,5	0,734	0,001
913,2	0,722	0,001
1000	0,726	0,001

La correlación es significativa al nivel 0,05 bilateral

Tabla 32. Correlación de Pearson y su nivel de significación a las 21 frecuencias estudiadas, en las mediciones en el segmento 3 con el electrodo insertado.

En este grupo, las mejores correlaciones corresponden a 403,5 y 506,2 kHz.

Lobulo = 3, Insertado, Frecuencia = 403,5000

Modelo lineal

Resumen del modelo ^a			
R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,759	,576	,549	24,173

La variable independiente es impedancia

ANOVA ^a					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	12694,890	1	12694,890	21,725	,000
Residual	9349,554	16	584,347		
Total	22044,444	17			

La variable independiente es impedancia.

Coeficientes ^a					
	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Resistencia	2,138	,459	,759	4,661	,000
(Constante)	-68,018	27,934		-2,435	,027

La fórmula de regresión lineal de este modelo sería:

$$Y = -68,018 + 2,138 X \quad Y = \text{esteatosis} \quad X = \text{impedancia}$$

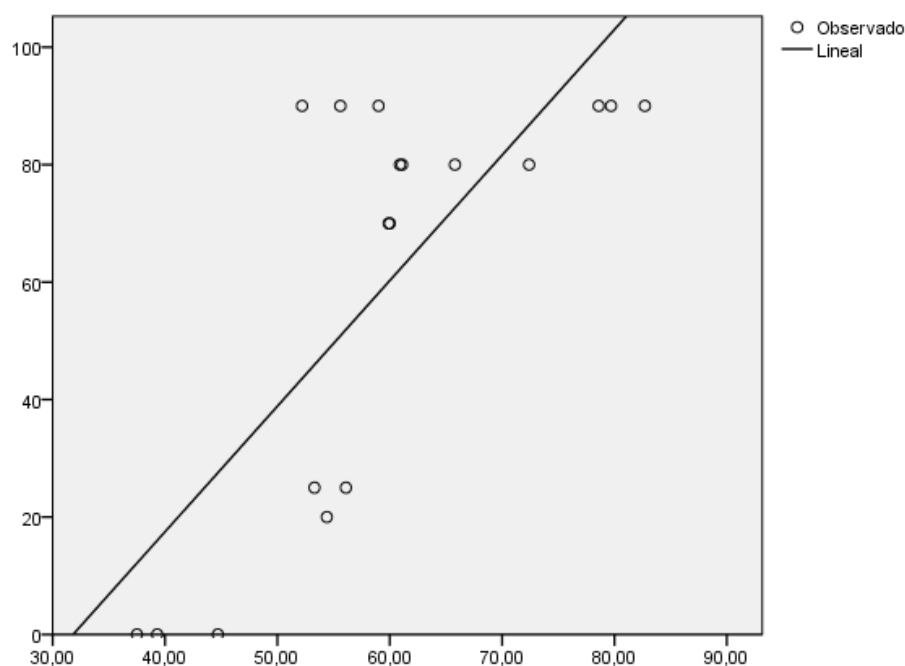


Fig. 119. Correlación impedancia (abscisas) y esteatosis (ordenadas) a 403,5 kHz, medición en el segmento 3 con el electrodo insertado.

Lobulo = 3, Insertado, Frecuencia = 506,2000

Modelo lineal

Resumen del modelo ^a			
R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,763	,582	,556	23,993

La variable independiente es Impedancia.

ANOVA ^a					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	12833,443	1	12833,443	22,292	,000
Residual	9211,002	16	575,688		
Total	22044,444	17			

La variable independiente es Impedancia.

Coeficientes ^a					
	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Resistencia	2,470	,523	,763	4,721	,000
(Constante)	-76,338	29,309		-2,605	,019

a. Lobulo = 3, Insertado = Sí, Frecuencia = 506,2000

La fórmula de regresión lineal de este modelo sería:

$$Y = -76,338 + 2,470 X \quad Y = \text{esteatosis} \quad X = \text{impedancia}$$

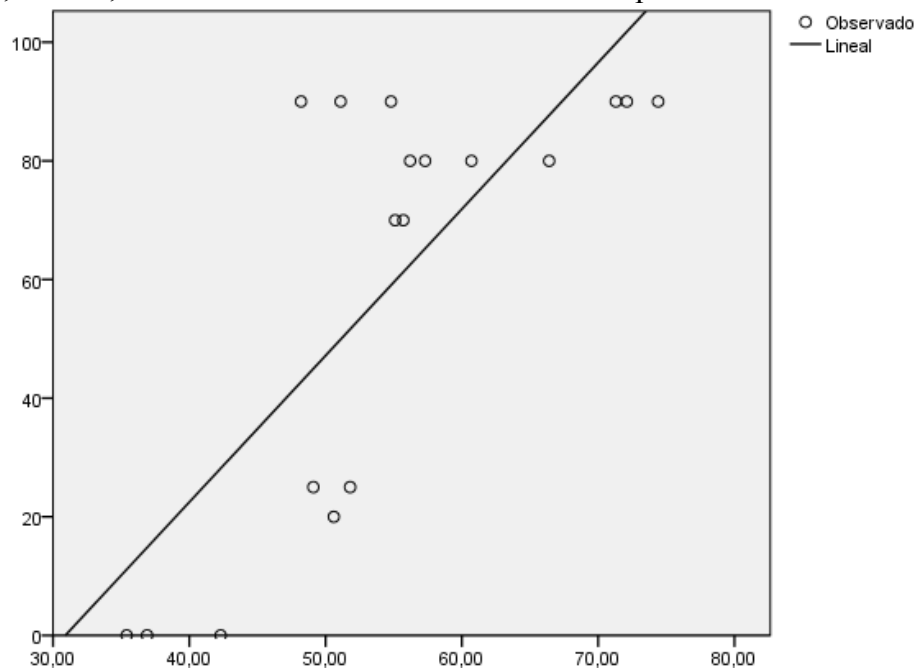


Fig. 120. Correlación impedancia (abscisas) y esteatosis (ordenadas) a 506,2 kHz, medición en el segmento 3 con el electrodo insertado.

9.4.2. Mediciones realizadas con el electrodo apoyado

SEGMENTO 4

CORRELACIÓN IMPEDANCIA-ESTEATOSIS EN FUNCIÓN DE LA FRECUENCIA
SEGMENTO 4 APOYADO

FRECUENCIA	CORRELACIÓN DE PEARSON	SIGNIFICACIÓN
3,084	0,730	0,001
4,028	0,733	0,001
5,067	0,737	0,000
6,074	0,731	0,001
7,113	0,735	0,001
8,151	0,737	0,000
9,127	0,738	0,000
10,23	0,738	0,000
15,01	0,715	0,001
25,33	0,690	0,002
50,01	0,657	0,003
75,25	0,718	0,001
101,1	0,753	0,000
152,1	0,733	0,001
204,2	0,768	0,000
300,4	0,737	0,000
403,5	0,744	0,000
506,2	0,727	0,001
711,5	0,601	0,008
913,2	0,487	0,040
1000	0,430	0,075

La correlación es significativa al nivel 0,05 bilateral

Tabla 33. Correlación de Pearson y su nivel de significación a las 21 frecuencias estudiadas, en las mediciones en el segmento 4 con el electrodo apoyado.

En este grupo, las mejores correlaciones corresponden 101,1 kHz y a 204,2 kHz

**Lobulo = 4, Apoyado, Frecuencia = 101,1
Modelo Lineal**

Resumen del modelo^a

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,753	,567	,540	24,427

La variable independiente es Impedancia.

ANOVA^a

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	12497,381	1	12497,381	20,944	,000
Residual	9547,064	16	596,691		
Total	22044,444	17			

La variable independiente es Impedancia.

Coefficientes^a

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Resistencia	1,020	,223	,753	4,577	,000
(Constante)	-74,626	29,856		-2,500	,024

La fórmula de regresión lineal de este modelo sería:

$$Y = -74,626,134 + 1,020 X \quad Y = \text{esteatosis} \quad X = \text{impedancia}$$

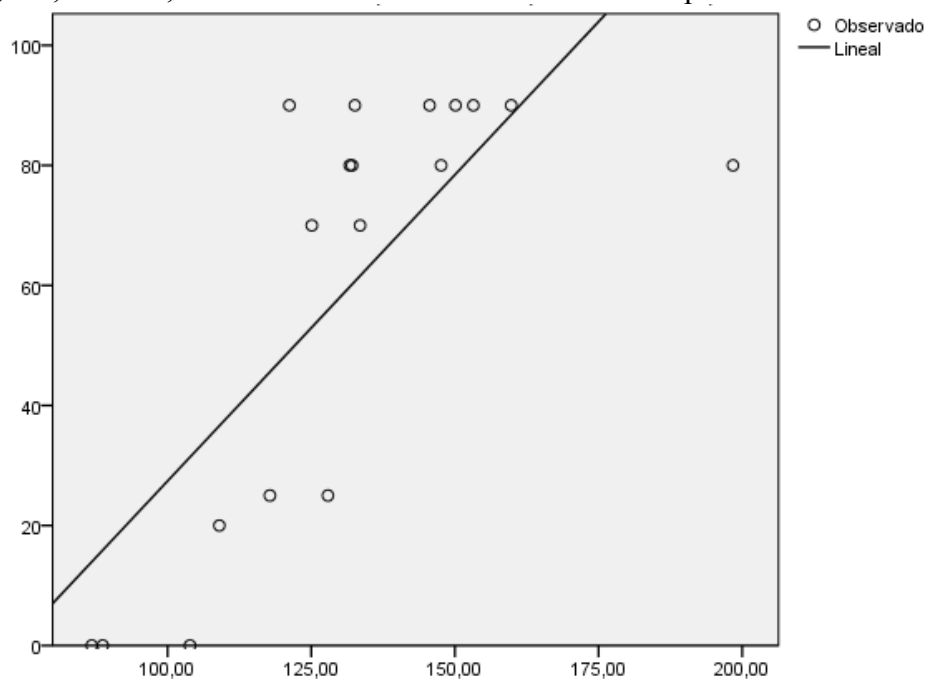


Fig. 121. Correlación impedancia (abscisas) y esteatosis (ordenadas) a 101,1 kHz, medición en el segmento 4 con el electrodo apoyado.

Lobulo = 4, Apoyado, Frecuencia = 204,2
Modelo lineal

Resumen del modelo^a

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,768	,589	,564	23,791

La variable independiente es Impedancia.

ANOVA^a

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	12988,433	1	12988,433	22,948	,000
Residual	9056,011	16	566,001		
Total	22044,444	17			

La variable independiente es Impedancia.

Coefficientes^a

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Resistencia	1,472	,307	,768	4,790	,000
(Constante)	-87,109	31,103		-2,801	,013

La fórmula de regresión lineal de este modelo sería:

$$Y = -87,109 + 1,472 X$$

Y = esteatosis

X = impedancia

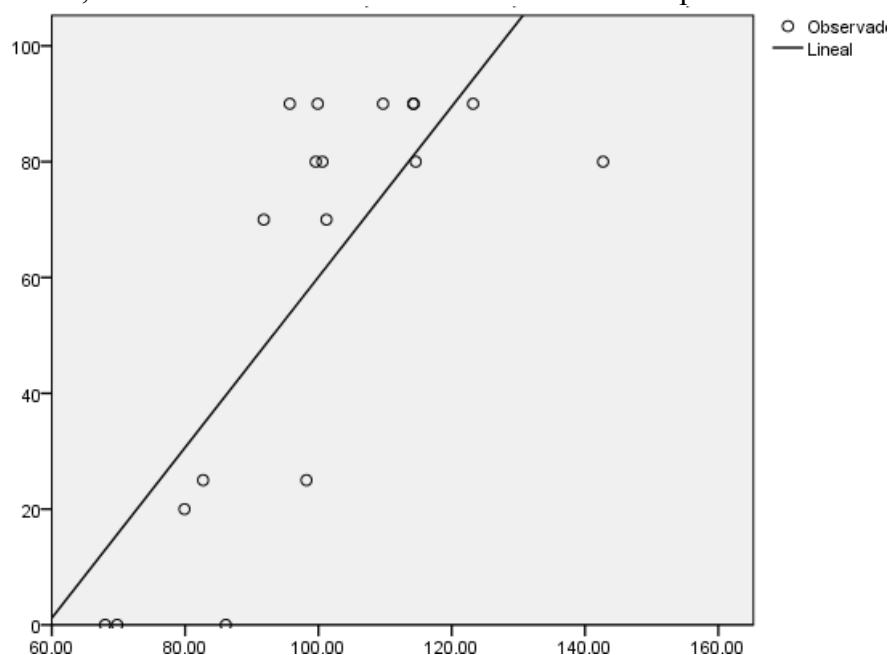


Fig. 122. Correlación impedancia (abscisas) y esteatosis (ordenadas) a 75,25 kHz, medición en el segmento 4 con el electrodo apoyado.

SEGMENTO 3

CORRELACIÓN IMPEDANCIA-ESTEATOSIS EN FUNCIÓN DE LA FRECUENCIA

SEGMENTO 3 APOYADO

Sólo se utilizan 11 cerdos de la muestra, dado que uno de ellos el n° 391, generó datos de impedancia fuera del rango esperado en la medición sobre el segmento 3 apoyado.

FRECUENCIA	CORRELACIÓN DE PEARSON	SIGNIFICACIÓN
3,084	0,803	0,000
4,028	0,804	0,000
5,067	0,806	0,000
6,074	0,808	0,000
7,113	0,809	0,000
8,151	0,812	0,000
9,127	0,812	0,000
10,23	0,813	0,000
15,01	0,817	0,000
25,33	0,825	0,000
50,01	0,847	0,000
75,25	0,860	0,000
101,1	0,865	0,000
152,1	0,870	0,000
204,2	0,870	0,000
300,4	0,854	0,000
403,5	0,830	0,000
506,2	0,792	0,000
711,5	0,716	0,000
913,2	0,566	0,018
1000	0,497	0,043

La correlación es significativa al nivel 0,05 bilateral

Tabla 34. Correlación de Pearson y su nivel de significación a las 21 frecuencias estudiadas, en las mediciones en el segmento 3 con el electrodo insertado.

En este grupo, las mejores correlaciones corresponden a 152,1 kHz y 204,2 kHz

Lobulo = 3, Apoyado, Frecuencia = 152,1
Modelo lineal

Resumen del modelo^a

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,870	,756	,740	18,198

La variable independiente es Impedancia.

ANOVA^a

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	15429,465	1	15429,465	46,590	,000
Residual	4967,594	15	331,173		
Total	20397,059	16			

La variable independiente es Impedancia.

Coefficientes^a

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Resistencia	1,236	,181	,870	6,826	,000
(Constante)	-86,434	22,156		-3,901	,001

La fórmula de regresión lineal de este modelo sería:

$$Y = -86,434 + 1,236 X \quad Y = \text{esteatosis} \quad X = \text{impedancia}$$

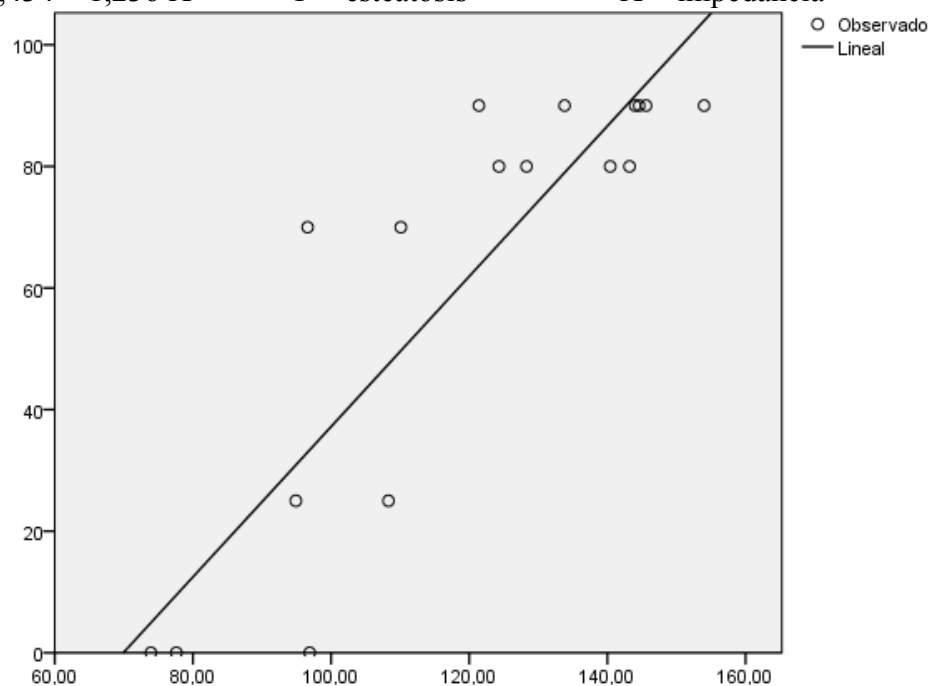


Fig. 123. Correlación impedancia (abscisas) y esteatosis (ordenadas) a 152,1 kHz, medición en el segmento 3 con el electrodo apoyado.

Lobulo = 3, Apoyado, Frecuencia = 204,2
Modelo lineal

Resumen del modelo ^a			
R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típico de la estimación
,870	,757	,741	18,172

La variable independiente es Impedancia.

ANOVA ^a					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	15443,937	1	15443,937	46,770	,000
Residual	4953,122	15	330,208		
Total	20397,059	16			

La variable independiente es Impedancia.

Coeficientes ^a					
	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típico	Beta		
Resistencia	1,459	,213	,870	6,839	,000
(Constante)	-92,513	22,985		-4,025	,001

La fórmula de regresión lineal de este modelo sería:

$$Y = -92,513 + 1,459 X \quad Y = \text{esteatosis} \quad X = \text{impedancia}$$

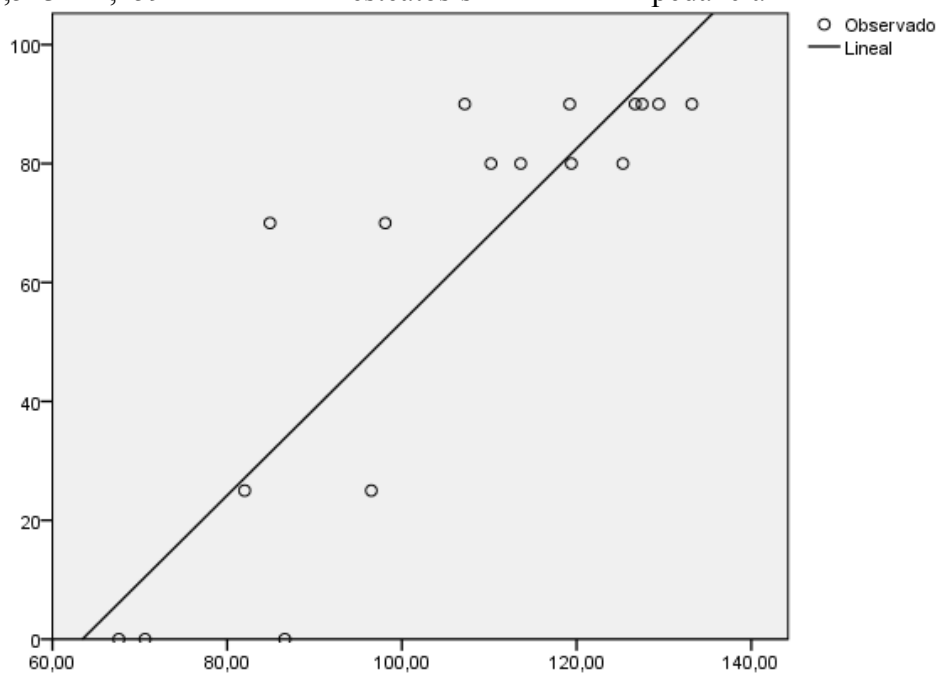


Fig. 124. Correlación impedancia (abscisas) y esteatosis (ordenadas) a 204,2 kHz, medición en el segmento 3 con el electrodo apoyado.

10.- DISCUSIÓN

10.- DISCUSIÓN

10.1. CONSIDERACIONES PREVIAS

El hígado es probablemente la víscera más compleja del organismo, no solo por su anatomía externa sino por su ultraestructura y capacidades funcionales, es el laboratorio central del organismo, en el conviven más de 20 estirpes celulares diferentes, más que en ningún otro órgano. El componente parenquimatoso del hígado, los hepatocitos, desarrollan una función extremadamente compleja, tanto en los estados fisiológicos de salud como en los estados patológicos. Las vías bioquímicas y reacciones moleculares que ocurren en los hepatocitos, aunque ampliamente descritas y estudiadas no son conocidas en su totalidad.

Uno de los fenómenos más complejos que ocurren en los hepatocitos es la acumulación de grasa en su citoplasma. En algunas especies, como las aves, la acumulación de lípidos supone un fenómeno fisiológico que les permite un ahorro de sustratos energéticos necesarios para periodos largos de gasto energético (las grandes migraciones anuales) sin posibilidad de ingesta alguna. Los hígados de las aves migratorias pueden acumular enormes cantidades de lípidos duplicando su peso y volumen. Este hecho no ocurre en la especie humana en la que el acúmulo de grasa se realiza fundamentalmente en el tejido celular subcutáneo y el abdomen. Así pues el acúmulo de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos debe considerarse esencialmente patológico para nuestra especie.

La esteatosis hepática tiene alta prevalencia en la humanidad, especialmente en el mundo occidental, donde predomina la población obesa

La esteatosis hepática es una enfermedad silenciosa, definida por el acúmulo de grasa dentro del citoplasma del hepatocito, cuya incidencia y prevalencia son cada vez mayores, probablemente debidos a los condicionantes del medio en que nos desarrollamos, componentes de la dieta, sedentarismo, estrés psicosocial, farmacoterapia etc.

La acumulación de los componentes de la grasa en el hepatocito, lejos de ser una forma reserva de energía, supone un estado prepatológico que puede desencadenar una serie de reacciones bioquímicas y celulares cuyo final puede ser el fracaso de la víscera. Una

cifra no despreciable de hígados esteatósicos evolucionan hacia la cirrosis, además los hígados esteatósicos adolecen de una falta de mecanismos de reparación celular ante las agresiones externas (dietéticas, farmacológicas, tóxicas etc.) disminuyendo la reserva funcional del hígado y las posibilidades de recuperación tras una injuria externa.

Un hígado esteatósico no soportará una resección extensa como un hígado normal. La esteatosis supone un hándicap a la cirugía resectiva del hígado y debe tenerse en cuenta ante una situación que pudiera acabar con un fracaso de la víscera. La labilidad del hepatocito esteatósico ante las agresiones externas, incluidos los periodos de isquemia caliente que ocurren en las grandes resecciones hepáticas, también debe de tenerse en cuenta a la hora de planificar la estrategia del tratamiento de un paciente que necesite una resección hepática.

Al realizar un trasplante pueden desenmascarse los efectos de la esteatosis en la función del órgano, fundamentalmente tras la isquemia fría. Durante el trasplante los hepatocitos van a sufrir un estrés oxidativo provocado por la isquemia y los efectos de la reperusión. Bajo condiciones normales los hepatocitos poseen mecanismos capaces de sobreponerse a estos efectos y sobrevivir recuperando su función al cien por cien, pero los hepatocitos esteatósicos presentan defectos tan importantes en los mecanismos de reparación que no son capaces de resistir el estrés oxidativo y otras reacciones bioquímicas y la mayoría de ellos sucumben a estos fenómenos.

Determinación de la esteatosis

El diagnóstico de la esteatosis se hace perentorio tanto en los pacientes que van a sufrir una cirugía hepática (incluyendo los donantes de órganos) como en el resto de pacientes, ya que el descubrimiento de una terapia eficaz o las modificaciones en el modo de vida o la eliminación de tóxicos podría poner freno a la cascada de acontecimientos que terminan en una cirrosis y/o insuficiencia hepática.

La cuantificación de la esteatosis, hoy en día, sólo se puede realizar mediante biopsia hepática. Existen otros métodos de aproximación diagnóstica, basados en diferentes pruebas radiológicas.

Ya se han expuesto los métodos para realizar un diagnóstico preciso de la esteatosis, la necesidad de realizar un muestreo significativo de la víscera con un mínimo daño y la obligatoriedad de obtener una muestra representativa del estado del resto del hígado. Uno de los métodos menos conocido, aunque ampliamente estudiado ha sido el de la

medición de la BI, se han enumerado las ventajas de utilizar la medición de la BI como método de muestreo de la existencia de lípidos en el citoplasma del hígado. La instrumentación requerida es relativamente barata, es una técnica no ionizante que puede ser no invasiva y muy fácil de utilizar.

Importancia de la frecuencia

Existen pocos estudios que realicen una aproximación a las características de la corriente con la cual se puede realizar una medición de la BI con mayor precisión, casi todos ellos adolecen de falta de análisis exhaustivo de las diferentes frecuencias y no señalan cuál es la frecuencia más adecuada para realizar la medición.

Los tejidos biológicos tienen la capacidad de conducir la electricidad, esta propiedad se basa en dos fenómenos, la resistividad y la capacitancia. A bajas frecuencias solo la resistividad tiene importancia por lo que la BI puede ser utilizada para medir las propiedades de los tejidos.

La medición de la BI se basa en la descomposición de los fenómenos eléctricos que ocurren en los tejidos al ser atravesados por una corriente eléctrica en una serie de efectos conocidos y fácilmente medibles. Estos fenómenos han sido muy estudiados pero todavía no conocemos a fondo el comportamiento eléctrico de las estructuras, particularmente complejas, que componen un tejido como es el hepático. Existen varias teorías que intentan explicar estos fenómenos, no son más que intentos de traspasar a modelos matemáticos los acontecimientos que ocurren a nivel molecular y atómico.

Aunque la disponibilidad de un modelo matemático fuera de interés para el análisis de los resultados desde el punto de vista físico o electrónico, probablemente no sea necesario para un análisis final de la estructura y fisiología del órgano, de hecho en la práctica los cambios en la estructura y la fisiología hepática producen cambios en la BI que siguen patrones similares para la misma patología o fisiología. Así pues, sin necesidad de realizar un análisis exhaustivo y muy minucioso del comportamiento eléctrico podemos llegar a interpretar estos cambios y correlacionarlos con la estructura o fisiología del órgano simplemente copiando los patrones de resultados.

Las propiedades eléctricas de los tejidos biológicos varían con el tipo de corrientes utilizadas, este hecho es conocido desde hace mucho tiempo.

En cualquier caso el espectro de frecuencias para realizar la medición que explore la estructura celular posee una amplia variabilidad y no se ha establecido todavía, a ello

hay que sumar que cada tejido u órgano posee una estructura tan diferente que hace que el espectro de las frecuencias de medición varíe mucho de un órgano a otro.

Sondas y sistemas de medición

Se han diseñado multitud de sondas para medir la BI, de hecho casi todos los grupos de investigación que se dedican a este estudio tienen diseños propios para realizar sus mediciones, casi todos utilizan instrumental de medición muy sofisticado y electrodos invasivos de medición cuatripolares con características muy diferentes, diseñados para su uso en los diferentes órganos como corazón, intestino, riñón, músculo hígado etc.

Las mediciones de BI suelen utilizar electrodos tetrapolares. Predomina el diseño de electrodo tipo peine^{69,74}. Este tipo de sonda no puede utilizarse de forma percutánea ni por laparoscopia.

Otros electrodos como los de Ivorra⁸⁰, Paulson⁸⁷ y Keshtkar⁸², diseñados para medir la BI en hígados de rata no eran útiles en hígado humano, el pequeño tamaño y la corta distancia de separación entre sus polos provoca una contaminación de las mediciones por el daño tisular que ocasiona la propia aguja de inserción al penetrar en los tejidos, la poca superficie de contacto entre el tejido y el electrodo o simplemente por la pequeña capa de suero que se interpone entre el electrodo y el tejido que se quiere estudiar. No hemos encontrado en la literatura ningún electrodo que cumpliera las características y funciones de la medición de la BI en hígado humano, ese era uno de nuestros principales objetivos, así que tuvimos que diseñar, construir y probar uno nuevo

Los sistemas de medida utilizados, por parte de la mayoría de los autores, son complejos aparatos de detección multifrecuencia con rangos de error muy pequeños, capaces de dar cifras muy exactas y de filtrar todos los ruidos o interacciones del propio aparato y muchas veces no portables, lo que los hace difícilmente utilizables en un contexto clínico. Probablemente no sea necesario el uso de esta instrumentación tan compleja, diseñada por otra parte para categorizar con exactitud las propiedades físicas de los materiales inanimados.

Modelos de esteatosis.

La dificultad de obtención de un modelo de esteatosis en grandes animales es la causa de que la mayoría de los estudios experimentales se realicen en pequeños animales, fundamentalmente en ratas. La utilización de un modelo porcino, más difícil de obtener, supone mayores posibilidades de traspasar los conocimientos y la técnica a su uso en el plano clínico. El hígado porcino se asemeja al hígado humano en muchas características y es un modelo ideal para estos estudios. No olvidemos que la finalidad última de nuestro estudio será la de obtener un método aplicable al hígado humano y de utilidad en la clínica.

10.2. PRINCIPALES APORTACIONES DE NUESTRO MODELO

Gracias a la dieta formulada por el equipo del Departamento de bioquímica y biología molecular de la facultad de Veterinaria de la universidad de Zaragoza (Prof. Osada) , pudimos obtener grados de esteatosis hepática considerables.

La dieta a la que fueron sometidos los animales del grupo estudio, es una dieta original (datos no publicados) en la que los animales reciben alimentación con ausencia de determinados componentes de las lipoproteínas, esto ocasiona una acumulación de lípidos en el hepatocito y no en la grasa subcutánea, como suele ocurrir en casos de acumulación de grasas por ingesta sin restricciones. Esta dieta **no incluye ningún elemento tóxico** y semeja en gran medida a las condiciones generales habituales de la esteatosis hepática. Los animales esteatósicos no ganaron peso a lo largo del experimento, en comparación con los animales del grupo control, que ganaron en ocasiones un 300% (cifra normal de ganancia de peso) durante el periodo de estudio. Los animales presentaron un aspecto adinámico y enfermizo, con alteraciones cutáneas, achacadas al déficit de vitaminas liposolubles, es posible que con una optimización en los componentes de la dieta se podría mejorar el estado general de los animales sin variar el estado esteatósico. Los animales a pesar de presentar, en ocasiones, niveles de esteatosis cercanos al 90%, no presentaban ninguna otra alteración clínica. Se realizaron controles analíticos convencionales aunque estos resultados no se han tenido en cuenta en este trabajo.

Sonda y sistema de medición

El diseño, aún cuanto toma prestados conceptos de otros anteriores, debe considerarse original, se ha solicitado la protección del mismo mediante una patente, ya que posee unas características optimizadas para realizar mediciones en hígados humanos que otros electrodos no poseen, su tamaño, proporciones y construcción son particularmente útiles para realizar la función por la que ha sido construido (explorar una región lo suficientemente significativa del hígado). Nuestro electrodo inyecta corriente a través de uno de los polos externos y la extrae por el otro, con un circuito de medición compuesto por dos polos situados entre ambos a una distancia concreta.

También hemos demostrado que nuestro electrodo es capaz de obtener mediciones significativas de BI, con las mejores correlaciones con la esteatosis, simplemente apoyándolo sobre la superficie del hígado, sin necesidad de realizar una punción del mismo, lo cual elimina el riesgo de producir lesiones del mismo y la posibilidad de permanecer cercano a vías de conducción rápida como son los vasos sanguíneos, así pues hemos demostrado que cuanto más cercanos a la superficie permanezca el electrodo más significativas **y reales** serán las mediciones.

El electrodo fue diseñado por nuestro equipo tras una serie de pruebas y modelos previos y fue fabricado por la empresa suiza Medelec con arreglo a normativa de calidad europea, el diseño es tetrapolar, pero todo el sistema eléctrico está dispuesto a lo largo de una aguja de punción, las mediciones de este modelo han sido realizadas a través de 1 una laparotomía media, aunque con este diseño se pueden realizar de forma transcutánea o en el transcurso de una laparoscopia.

-La distancia entre los 4 polos del electrodo tetrapolar consigue la medición de BI de un volumen mayor de parénquima hepático que los otros electrodos de una punta diseñados hasta ahora.

-Los sistemas de medida utilizados, por parte de la mayoría de los autores, son complejos aparatos de detección multifrecuencia con rangos de error muy pequeños, capaces de dar cifras muy exactas y de filtrar todos los ruidos o interacciones del propio aparato y muchas veces no portables, lo que los hace difícilmente utilizables en un contexto clínico. Probablemente no sea necesario el uso de esta instrumentación tan compleja, diseñada por otra parte para categorizar con exactitud las propiedades de materiales inanimados. Nosotros hemos elegido un sistema de medida que aunque no es tan preciso como los descritos por otros investigadores si se acopla a nuestras necesidades. En un principio utilizamos un sistema de medición en monofrecuencia

para categorizar de forma continua los rangos de BI medibles tanto en hígados sanos como en hígados con 100% de esteatosis, y con estos rangos de BI adquirimos un instrumento comercial que cumplía nuestras especificaciones y que además fuera homologado para su uso en el humano. El medidor multifrecuencia SFK-7 utilizado para medir la cantidad de grasa corporal mediante electrodos externos fue nuestra opción y el acoplamiento a nuestro electrodo multipolar fue una tarea sencilla. Se realizaron calibraciones en suero salino y pruebas de reproducibilidad en diversos tejidos antes de hacer la elección definitiva. El aparato pesa unos 2 Kg. es totalmente portable (funciona con baterías) y fácilmente manejable, acumula los datos de varias mediciones que deben ser descargados a un ordenador provisto de un software especial. Es posible que el medidor definitivo sea aún más sencillo, utilizando un menor espectro de frecuencias y una forma de expresar las mediciones de forma numérica, sin necesidad de utilizar cálculos analíticos para trasladar los resultados a una escala numérica.

Frecuencia de la corriente

Una de los objetivos de nuestro estudio era el de determinar cuál o cuáles eran las frecuencias óptimas con las que realizar la medición de la BI, para una mejor correlación.

Con este estudio hemos conseguido determinar cuál es la frecuencia que estima la mejor correlación entre esteatosis y BI, tanto en las mediciones realizadas con el electrodo insertado, como con el electrodo apoyado.

Con el electrodo insertado en el segmento 4, la medición mas significativa se realizó con una corriente de una frecuencia de 4,028 kHz, y en cambio en el segmento 3, las mejores frecuencias de la corriente, para realizar las mediciones, fueron de 403,5 y de 506,2 kHz.

Con el electrodo apoyado en segmento 4 la mediciones mas significativas se realizaron con las frecuencias de 101,1 kHz y de 204,2 kHz; y con el electrodo apoyado en el segmento 3 las mejores frecuencias para realizar la medición fueron las de 152,1 y 204,2 kHz. (obteniendo la máxima correlación, 8,7). Estas diferencias caben ser achacadas a la variabilidad anatómica de los lóbulos hepáticos donde se realizaron las mediciones y al pequeño grosor del hígado, en el caso de las mediciones con el electrodo insertado.

Se ha obtenido una fuerte correlación lineal mediante la medición con el electrodo apoyado, tanto en el lóbulo 3, como en el lóbulo 4, en comparación con las mediciones realizadas con el electrodo insertado.

La fórmula matemática obtenida permite la aproximación cuantitativa a la esteatosis hepática con una sola determinación de BI.

Los resultados obtenidos en nuestras experiencias, en cuanto a índices de correlación, nos han permitido encontrar cual es la mejor frecuencia con la que realizar las mediciones y sobre todo cual es el mejor método de aplicación del electrodo, en nuestro caso una aplicación directa sobre la superficie de la víscera. Los índices de correlación obtenidos son mejores que los publicados por Parramón⁷⁴ y cols. (que alcanzan como máximo una correlación de 0,73) a pesar de que la dispersión de las cifras de esteatosis no era muy grande. Este es uno de los defectos de la experiencia realizada ya que nuestro método de obtener esteatosis provocaba elevadísimos índices de la misma, a pesar de realizar controles mediante biopsia a mitad de experiencia las cifras finales obtenidas fueron superiores al 50% en la gran mayoría de los casos, esta es la razón por la que los coeficientes no mostraron mejores cifras.

10.3. LIMITACIONES DE NUESTRO MODELO EXPERIMENTAL

Una de las limitaciones es el propio modelo de esteatosis en hígado porcino. A pesar de haber utilizado animales grandes, con un volumen hepático casi similar al humano, las características del hígado porcino, su configuración más aplanada, su lobulación en cuatro lóbulos, solo permite la inserción del electrodo en una dirección (paralelo al eje de las suprahepáticas), es de suponer que en hígados más grandes, como en el humano, este problema quedaría obviado por el mayor grosor de la víscera.

Durante el experimento, a la hora de realizar las mediciones a pesar de que el electrodo siempre fue apoyado e insertado por el mismo investigador, nos podemos encontrar con mediciones erróneas si el electrodo no está perfectamente en contacto con la superficie hepática (los cuatro polos deben de contactar perfectamente con la superficie hepática). Probablemente la repetición de mediciones conlleve la adquisición de la destreza a la

hora de realizar las determinaciones de bioimpedancia, aunque el propio aparato de medición indicaba esta circunstancia..

La variabilidad en cuanto al grado de esteatosis producido en la biopsia intermedia (entre el 20 y el 90%) puede ser achacable a los problemas con la ingesta dietética, la dieta administrada no resultaba agradable y era poco apetecible para el animal (por la cantidad de colatos que poseía que la hacían de un sabor amargo y desagradable). El control exhaustivo de la ingesta supondría realizar una alimentación por medio de sonda nasogástrica que la hacía impracticable, no obstante esta variabilidad era buscada por nosotros con la finalidad de obtener resultados lo suficientemente dispersos como para obtener líneas de correlación lo más perfectas posible.

Una de las críticas que ha recibido este método es la falta de un consenso en las cifras normales de resistividad de los diferentes tejidos, cifras que son reportados por los autores de forma muy dispar y que atribuyen a la variabilidad intrínseca de los tejidos biológicos, variabilidad entre similares tejidos de la misma especie e incluso entre los mismos órganos de diferentes especies. Estas diferencias se han achacado a diferentes métodos de medición, diferencias en la preparación y condicionamiento de los tejidos. Estos datos pueden llegar a hacer pensar que no es posible obtener tablas con datos basales de BI y mucho menos compararlos con los obtenidos por otros métodos, Las dificultades en la reproductibilidad de las medidas son reales pero si se utilizan los mismos métodos sobre los mismos tejidos y en condiciones similares los datos de BI son perfectamente reproductibles y extrapolables. Nuestro grupo ha realizados experimentos con diferentes tipos de electrodos comprobando este extremo.

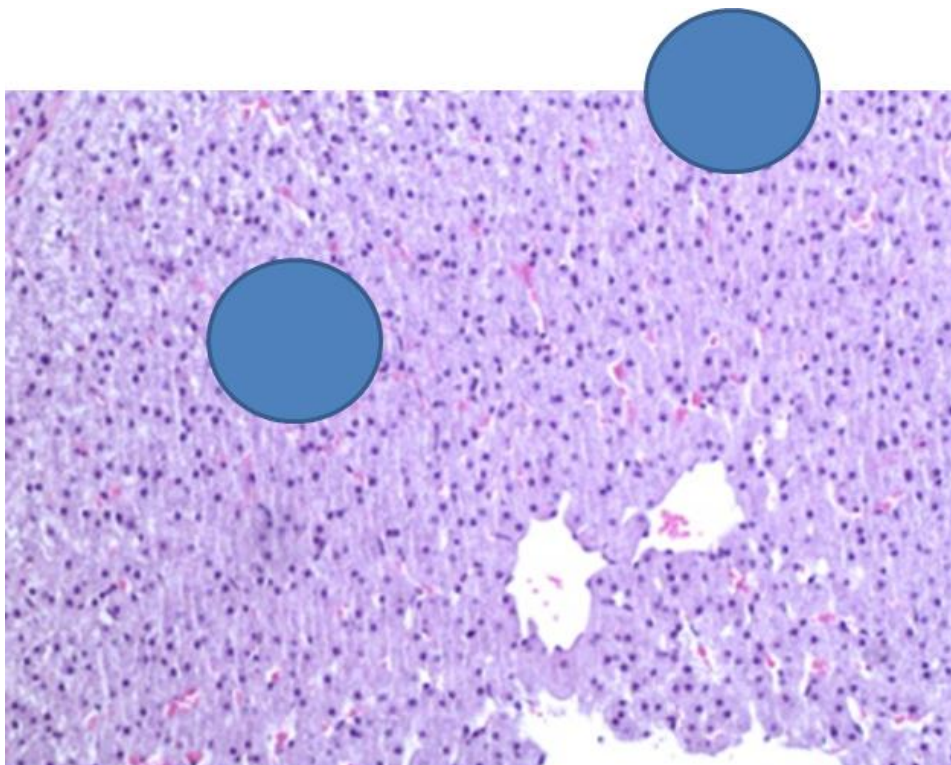


Fig. 125. Sección transversal del hígado, con el electrodo apoyado o insertado.

En este esquema, sección de una pieza de hígado con el electrodo cortado transversalmente se aprecia que la superficie de contacto del electrodo con el tejido hepático, electrodo insertado, es casi el doble que si aplicamos el electrodo en la superficie, pues bien las cifras de BI obtenidas con los electrodos insertados eran de aproximadamente la mitad que las cifras con el electrodo apoyado, lo cual es lógico que así sea, esto otorga un gran valor a las mediciones obtenidos con nuestro electrodo. Este detalle es crucial ya que si la superficie de contacto es mínima, caso de otros electrodos empleados, la variabilidad de las lecturas obtenidas sería mayor.

No obstante la sistemática para obtener un resultado no sería la de comparar datos o cifras absolutas que se correlacionasen con un diagnóstico preciso sino que nos conformaríamos con obtener patrones o tendencias de medidas. El proceso diagnóstico seguiría el esquema abajo expresado:

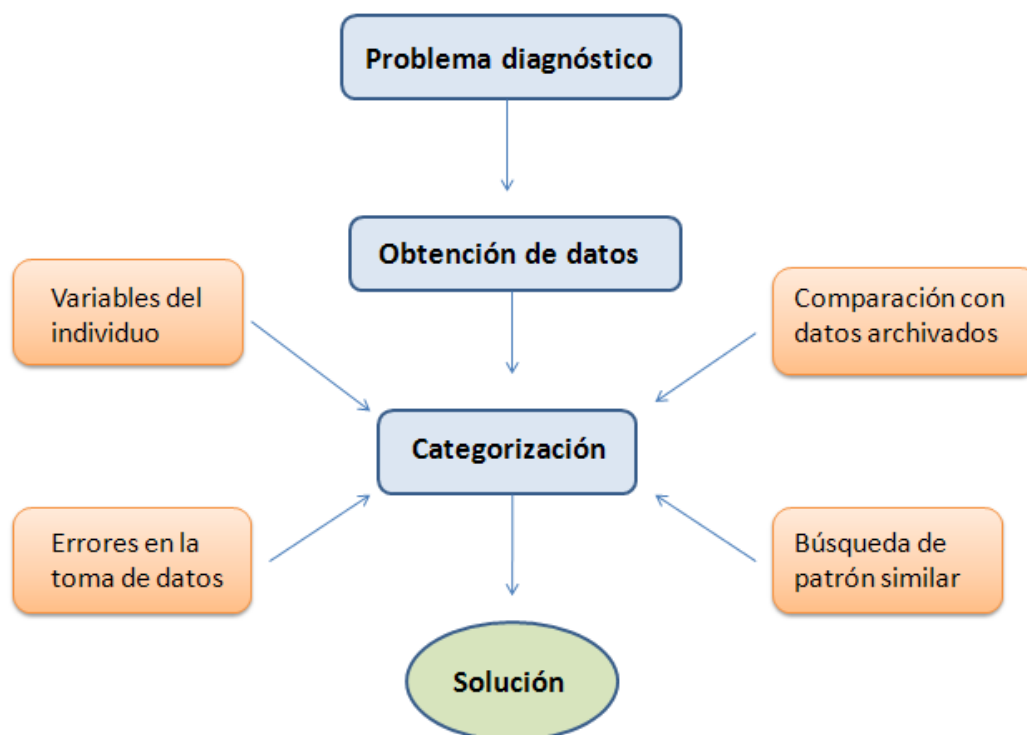


Fig. 126. Algoritmo general de proceso diagnóstico.

En este esquema se expone que partiendo de un problema diagnóstico (en nuestro caso la posibilidad de hígado graso), realizaríamos una medición de la BI, teniendo en cuenta las variables del individuo y la posibilidad de errores en la toma de datos, los datos se compararían con las tablas obtenidas con anterioridad para poder enmarcar el resultado obtenido en una categoría diagnóstica.

-Otra de las críticas que ha recibido la medición de la BI ha sido la total ausencia de especificidad de los resultados, diversas enfermedades y estados fisiológicos ocasionan variaciones similares de la BI, efectivamente las variaciones en el estado fisiológico y alteraciones estructurales muy diversas pueden mostrar cifras de BI similares. Este es un tema de gran discusión en la literatura y una de las líneas de investigación mas prometedoras. Frente a esto se están investigando nuevos modelos matemáticos que expliquen estas variaciones aunque todavía no se puede obtener una explicación ni siquiera con modelos complejos computacionales.

Este hecho no debe restar valor a la BI, las enfermedades hepáticas y los cambios estructurales siguen patrones muy constantes dentro de la misma patología y de un

paciente a otro y probablemente no sea necesario conocer al mínimo detalle las alteraciones ultraestructurales y moleculares para poder realizar un diagnóstico.

Otra de las críticas al método es que los tejidos biológicos distan de ser unas estructuras homogéneas, poseen una gran variabilidad en su anatomía externa y su ultraestructura, que hace difícil homogeneizar los resultados en los distintos individuos para obtener unos datos basales.

En nuestro estudio no se ha tenido en consideración los resultados de la impedancia de contacto o del electrodo. El electrodo actúa como un transductor entre la corriente electrónica en el sistema de medida y la corriente iónica de los tejidos biológicos, en la propia interfase existen fenómenos de desplazamiento y de oxido-reducción en la propia superficie del electrodo, que pueden interferir con las cifras obtenidas. El contacto de la superficie del electrodo tiene un efecto capacitivo mayormente, es la impedancia provocada por la interfase entre el propio electrodo y el tejido sobre el que se aplica, el material con que se construyeron y la calibración realizada en soluciones salinas con cifras de impedancia conocidas redujeron al mínimo este efecto. Estos datos serían imprescindibles catalogar las propiedades intrínsecas de los diversos materiales, detallando las cifras exactas de cada componente, pero en los materiales biológicos tienen una importancia secundaria ya que al utilizar siempre el mismo sistema y aparatos de medición esta variable se anula y además no necesitamos cifras absolutas de BI, sino categorizar los resultados en grupos u obtener niveles máximos o mínimos que nos permitan adjudicar cada resultado individual a un diagnóstico previo.

-Dado que los valores de temperatura, hematocrito, tensión arterial y flujo sanguíneo en el hígado eran similares en todos los animales estas variables apenas tuvieron influencia en los resultados de las mediciones, pero deberán ser tenidas en cuenta ante la posible utilidad de este método en el diagnóstico de la esteatosis de los donantes de órganos, los cuales poseen una gran variabilidad en cuanto a sus constantes clínicas, analíticas, peso, estado de hidratación, flujo hepático etc.

En resumen, el método de obtención de la BI a través de un electrodo especial y un sistema de medida puede convertirse en una biopsia virtual capaz de detectar cambios histológicos susceptibles de modificar el manejo de los pacientes tanto en el campo de los trasplantes como en otros campos de la medicina. Serán necesarios futuros estudios para caracterizar el comportamiento de las corrientes eléctricas pero con los conocimientos actuales creemos que ya es posible una utilización clínica de las mediciones de la BI tisular.

11.- CONCLUSIONES

11.- CONCLUSIONES

1-Utilizando la sonda tetrapolar, de nuevo diseño, y un sistema de medida podemos obtener cifras de BI que se correlacionan con el grado de esteatosis en un modelo de esteatosis porcina inducido mediante dietas especiales.

2-Hemos obtenido correlaciones entre la BI y el porcentaje de esteatosis tanto mediante la medición con la sonda insertada en el seno del parénquima hepático como con la sonda apoyada en su superficie.

3-Las mejores cifras de correlación se han obtenido mediante las mediciones con la sonda apoyada en la superficie del hígado.

4-Las frecuencias optimas de la corriente con las cuales se han realizado las mediciones han sido entre 101,1 kHz y 204 kHz

5-Como conclusión final creemos que somos capaces de medir la esteatosis hepática con nuestro método de medición de la BI.

12.- BIBLIOGRAFÍA

12.- BIBLIOGRAFÍA

1 Persico M, Iolascon A. Steatosis as a co-factor in chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 2010; 16(10): 1171-1176

2 Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology*. 2005;42:44–52.

3 Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Ann Intern Med*. 2000;132:112–117.

4 Imber JC, St. Peter SD, Handa A, Friend PJ. Liver Hepatic Steatosis and Its Relationship to Transplantation. *Liver Transpl* 2002; 8:415-423.)

5 Urena MA, Moreno Gonzalez E, Romero CJ, Ruiz-Delgado FC, Moreno Sanz C. An aproach to the racional use of steatotic donors livers in liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 1999 Mar-Apr; 46 (26): 1164-73.

6 Fishbein TM, Fiel MI, Emre S, Cubukcu O, Guy SR, Schargz Me, Miller Cm, Sheiner PA. Use of livers with microvesicular fat safely expands de donor pool. *Transplantation* 1997; 64:248-251.

7 Scott WWJr, Sanders RC, Siegelman SS. Irregular fatty infiltration of the liver: Diagnostic dilemmas. *AJR Am J Roentgenol* 1980;135:67-71.

8 Janiec DJ, Jacobson ER, Freeth A, Spaulding L, Blaszyk H. Histologic Variation of Grade and Stage of NonalcoholicFatty Liver Disease in Liver Biopsies. *Obesity Surgery*, 15, 497-501

-
- 9 Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005 Jun;128(7):1898-906.
- 10 Kaminski DL, Mueller EJ, Jellinek M. Effect of small intestinal bypass on hepatic lipid accumulation in rats. *Am J Physiol* 1980 Nov;239(5):G358-62
- 11 Duvnjak M, Baršić N, Tomašić V, Lerotić I. Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: Clues to pathogenesis and disease progression. *World J Gastroenterol* 2009; 15(48): 6023-6027
- 12 Duvnjak M, Lerotic I, Barsic N, Tomasic V, Virovic L Velagic V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2007 September 14; 13(34): 4539-4550.
- 13 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two “hits”? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845.
- 14 Hijona E, Hijona L, Arenas JI, Bujanda L. Inflammatory mediators of hepatic steatosis. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:837419.
- 15 Crespo J, Cayon A, Fernandez-Gil P, Hernandez-Guerra M, Mayorga M, Dominguez-Diez A, Fernandez-Escalante JC, Pons-Romero F. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in non-alcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 2001; 34: 1158-1163.
- 16 Turlin B, Ramm GA, Purdie DM, Lainé F, Perrin M, Deugnier Y, Macdonald GA. Assessment of hepatic steatosis: comparison of quantitative and semiquantitative methods in 108 liver biopsies. *Liver Int*. 2009 Apr;29(4):530-5. Epub 2008 Oct 19.
- 17 Franzén LE, Ekstedt M, Kechagias S, Bodin L. Semiquantitative evaluation overestimates the degree of steatosis in liver biopsies: a comparison to stereological point counting. *Mod Pathol*. 2005 Jul;18(7):912-6.

-
- 18 Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *American Journal of Gastroenterology* (1999) 94, 2467–2474;
- 19 Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980 Jul;55(7):434
- 20 Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsch JD, Hoffmann RM, Sasaki T, Sollinger HW, Belzer FO, Kalayoglu M. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation--a multivariate analysis. *Transplantation.* 1993 Apr;55(4):807-13.
- 21 Angelico M. Donor liver steatosis and graft selection for liver transplantation: a short review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2005 Sep-Oct;9(5):295-7.
- 22 Hui AM, Kawasaki S, Makuuchi M, Nakayama J, Ikegami T, Miyagama S. Liver Injury following normothermic ischemia in steatotic rat liver. *Hepatology* 1994, 20 (5),1287-1293.
- 23 Urena MA, Moreno Gonzalez E, Romero CJ, Ruiz-Delgado FC, Moreno Sanz C. An approach to the racional use of steatotic donors livers in liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 1999 Mar-Apr; 46 (26): 1164-73.
- 24 Memoria actividad ONT 2010.
http://www.ont.es/infesp/Memorias/Memoria_Hepatico_2010.pdf
- 25 Saviera E, Eyraud D, Taboury J, Vaillant JC and Hannoun L. Técnicas y modalidades de exclusión vascular del hígado y de las hepatectomías extremas. *Enciclopedia Médico Quirúrgica* E-40-766.
- 26 Behrns KE, Tsiotos GG, DeSouza NF, Krishna MK, Ludwig J, Nagorney DM. Hepatic steatosis as a potential risk factor for major hepatic resection. *J Gastrointest Surg.* 1998 May-Jun;2(3):292-8.

-
- 27 Veteläinen R, van Vliet A, Gouma DJ, van Gulik TM. Steatosis as a Risk Factor in Liver Surgery. *Ann Surg* 2007;245: 20–30
- 28 van der Bilt JD, Kranderburg O, Borren A, van Hillegersberg, Borel Rinkes IH. Ageing and hepatic steatosis exacerbate ischemia/reperfusion-accelerated outgrowth of colorectal of micrometastasis. *Ann Surg Onc* 2008 May 15 (5): 1392-8.
- 29 Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004 Dec;40(6):1387-95.
- 30 Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. 2002 Apr 18;346(16):1221-31
- 31 L A Adams, P Angulo. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Postgrad Med J* 2006;82:315–322
- 20 Ryan CK, Johnson LA, Germin BI et al. One hundred consecutive hepatic biopsies in the workup of living donors for right lobe liver transplantation. *Liver Transpl*. 2002; 8: 1114–22.
- 33 Se Hyung Kim, MD et al. Hepatic macrosteatosis: Predicting appropriateness of Liver Donation by Usin MR Imaging –Correlation with Histopathologic Findings. *Radiology* 2006; 240: 116-119.
- 34 Longo R, Ricci C, Masutti F, Vidimari R, Crocé LS, Bercich L, Tiribelli C, Dalla Palma L. Fatty infiltration of the liver. Quantification by 1H localized magnetic resonance spectroscopy and comparison with computed tomography. *Invest Radiol*. 1993 Apr;28(4):297-302..
- 35 Zhong L, Chen JJ, Chen J, Li L, Lin ZQ, Wang WJ, Xu JR. Nonalcoholic fatty liver disease: quantitative assessment of liver fat content by computed tomography, magnetic

resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy. J Dig Dis. 2009 Nov;10(4):315-20.

36 Giuseppe Brancatelli, MD. Science to practice: Should biopsy be performed in potencial liver donors when unenhanced CT shows an unacceptable degree of steatosis for transplantation? Radiology 2006; 239: 1-2.

37 Park SH, Kim PN, Kim KW, Lee SW, Yoon SE, Park SW, Ha HK, Lee MG, Hwang S, Lee SG, Yu ES, Cho EY. Macrovesicular hepatic steatosis in living liver donors: use of CT for quantitative and qualitative assessment. Radiology. 2006 Apr;239(1):105-12. Epub 2006 Feb 16.

38 Iwasaki M, et al. Noninvasive evaluation of graft steatosis in living donor liver transplantation. Transplantation. 2004 Nov 27; 78 (10) 1501-5.

39 Limanond P, Raman SS, Lassman C, MD, Sayre J, Ghobrial RM, Busuttil RW, Saab S, Lu DSK. Macrovesicular Hepatic Steatosis in Living Related Liver Donors: Correlation between CT and Histologic Findings. Radiology 2004;230:276-280

40 de Moura Almeida A, Cotrim HP, Barbosa DB, de Athayde LG, Santos AS, Bitencourt AG, de Freitas LA, Rios A, Alves E. Fatty liver disease in severe obese patients: diagnostic value of abdominal ultrasound. World J Gastroenterol. 2008 Mar 7;14(9):1415-8.

41 Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. J Hepatol 2003 Aug; 39(2) 230-244.

42 Valentin-Gamaño C, Malagó M, Karliova M, Lutz JT, Frilling A, Nadalin S, Testa G, Ruehm SG, Erin Y, Paul A, Lang H, Gerken G, Broelsch CE. Experience after the evaluation of 700 potential donors for living donor liver transplantation in a single center. Liver Transpl. 2004 Sep; 10(9):1087-96.

43 Silvio Nadalin et al. Preoperative donor liver biopsy for adult living donor liver transplantation: risks and benefits. *Liver Transplantation*, Vol 11, N° 8 (August), 2005: 980-986.

44 Brown RS Jr, et al. A survey of liver transplantation from living adult donors in the United States. *N Engl J Med* 2003; 348:818-825.

45 Tram t Tran et al. Living donor liver transplantation: Histological abnormalities found on liver biopsias of apparently potencial donors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2006; 21: 381-383.

46 Y.Hasegawa et al. Discontinuation of Living Donor Liver Transplantation for PAC Due to Histological Abnormalities In Intraoperative Donor Liver Biopsy. *American Journal of Transplantation*. 2007; 2204-2207.

47 Gabriel S, Maroney TP, Ringe BH. Hepatic artery-portal vein fistula formation alter percutaneous liver biopsy in a living liver donor. *Transplant Proc*. 2007 Jun; 39 (5):1707-9.

48 Seifalian AM, Piasecki C, Agarwal A, Davidson BR. The effect of graded steatosis on flow in the hepatic parenchymal microcirculation. *Transplantation* 1999;68:780-784.

49 D'Alessandro AM, Kalayoglu M, Sollinger HW, et al. The predictive value of donor liver biopsies for the development of primary nonfunction alter orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1991; 51:157.

50 Lawal A, Florman S, Fiel MI, Gordon R, Bromberg J, Schiano TD. Identification of ultrastructural changes in liver allografts of patients experiencing primary nonfunction. *Transplant Proc*. 2005 Dec;37(10):4339-42.

51 Hayashi M, Tokunaga Y, Fujita T, Tanaka K, Yamaoka Y, Ozawa K. The effects of cold preservation on steatotic graft viability in rat liver transplantation. *Transplantation*. 1993 Aug;56(2):282-7.

52 Fukumori T, Ohkohchi N, Tsukamoto S, Satomi S. Why is fatty liver unsuitable for transplantation? Deterioration of mitochondrial ATP synthesis and sinusoidal structure during cold preservation of a liver with steatosis. *Transplant Proc.* 1997 Feb-Mar;29(1-2):412-5.

53 Todo S, Demetris AJ, Makowka L, Teperman L, Podesta L, Shaver T, et al. Primary nonfunction of hepatic allografts with preexisting fatty infiltration. *Transplantation* 1989;47:903-905.

54 Marcos A, Fisher RA, Ham JM et al. Selection and outcome of living donors for adult to adult right lobe transplantation. *Transplantation* 2000; 69: 2410–15.

55 Verran D, Kusyk T, Painter D, Fisher J, Koorey D, Strasser S, Stewart G and McCaughan G. Clinical experience gained from the use of 120 steatotic donor livers for orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003 May;9(5):500-5

56 Durand F, Renz JF, Alkofer B, Burra P, Clavien PA, Porte RJ, Freeman RB, Belghiti J. Report of the Paris consensus meeting on expanded criteria donors in liver transplantation. *Liver Transpl.* 2008 Dec;14(12):1694-707.

57 Koteish A, Diehl AM. Animals models of steatohepatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2002; 16(5): 679-690.

58 Larter CZ Yeh MM. Animal models of Nash: Tetting both pathology and metabolic context right. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Nov;23(11):1635-48.

59 Fan JG, Kiao L. Commonly used animal model in steatohepatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 233-240.

60 Koca SS, Bahcecioglu IH, Poyrazoglu Ok, Ozercan IH, Shi K, Ustundag B. The treatment with Antibody of TNF- α Reduces the Inflammation, Necrosis and Fibrosis in

the Non-alcoholic Steatohepatitis Induced by Methionine-and Choline-deficient Diet. *Inflammation* 2008; 31 (2): 91-98.

61 Cong WN, Tao RY, Tian JY, Liu GT, Ye F. The establishment of a novel non-alcoholic steatohepatitis model accompanied with obesity and insulin resistance in mice. *Life Sciences* 82 (2008) 983-990.

62 Gyamfi MA, Damjanov I, French S, Wan YJY. The Pathogenesis of Ethanol versus Methionine and Choline Deficient Diet-Induced Liver Injury. *Biochem Pharmacol.* 2008; 75(4): 981–995.

63 Lu Y, Zhuge J, Wang X, Bai J, Cederbaum AI. Cytochrome P450 2E1 contributes to ethanol-induced fatty liver in mice. *Hepatology.* 2008 May;47(5):1483-94.

64 Mets B, Kamban JR, Janicki PK, Franks J, Neveling U, Hickman R. Alcohol pretreatment does not affect bupivacaine pharmacokinetics in the pig. *Pharmacol Res* 1996;33:291-295.

65 Spannbauer MM, Oleszczuk A, Tannapfel A, Blüher A, Pietsch UC, Hengstler J, Donaubaue B, Madaj-Sterba P, Fürll M, Schuhmacher A, Tiery J, Hauss JP and Schön MR. Micro and macrovesicular steatotic liver model for transplantation induced by ethanol and protein-Deficient diet. *Transplant Proc.* 2005 Jan-Feb;37(1):210-1.

66 Alonso M, Finn EJ. Física. (1995) Addison-Wesley Iberoamérica.

67 Gabriel C, Gabriel S and Corthout E. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey *Phys. Med. Biol.* 41 (1996) 2231–2249.

68 Schwan HP. Electrical properties of tissue and cell suspensions. In: *Advances in biological and medical physics*, vol. 5, Academic Press, New York, 1957, 147-209

69 Parramon D, Erill I, Guimerà A, Ivorra A, Muñoz A, Sola A, Fondevila C, García-Valdecasas JC, Villa R. In vivo detection of liver steatosis in rats based on impedance spectroscopy. *Physiol Meas*. 2007 Aug;28(8):813-28. Epub 2007 Jul 6.

⁷⁰ Faes TJ, van der Meij HA, de Munck JC, Heethaar RM. The electric resistivity of human tissues (100 Hz-10 MHz): a meta-analysis of review studies. *Physiol Meas*. 1999 Nov;20(4):R1-10

71 Gabriel C, Gabriel S and Corthout E. The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20GHz. *Phys. Med. Biol.* 41 (1996) 2251-2269

72 Altmann A, Pliquet U. Prediction of intramuscular fat by impedance spectroscopy. *Meat Science* 72 (2006) 666-672.

73 Osswald K. Messung der Leitfähigkeit und Dielektrizitätskonstante biologischer Gewebe und Flüssigkeiten bei kurzen Wellen Hochfrequenz Tech. *Elektroakustik* 1937; 49 40–50.

74 Hessheimer AJ, Parramón D, Guimerà A, Erill I, Rimola A, García-Valdecasas JC, Villa R, Fondevila C. A rapid and reliable means of assessing hepatic steatosis in vivo via electrical bioimpedance. *Transplantation*. 2009 Sep 15;88(5):716-22.

75 Grimnes S and Martinsen OG. *Bioimpedance and Bioelectricity Basics* (2000). Academic Press.

76 Fricke H, Morse S. A mathematical treatment of the electrical conductivity and capacity of disperse systems. I. The electric conductivity of a suspension of homogeneous spheroids *Phys Rev* 24: 575-587, 1924

77 Gabriel C, Gabriel S and Corthout E. The dielectric properties of biological tissues: II. The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey. *Phys. Med. Biol.* 41 (1996) 2231-2249.

78 Schrfetter H. Structural modeling for impedance-based non-invasive diagnostic methods. Thesis for the habilitacion at the Faculty of Electrical Engineering Technical University Graz. 1999 Nov.

79 Spottorno J, Multigner M, Rivero G, Álvarez L, de la Venta J, Santos M. Time dependence of electrical bioimpedance on porcine liver and kidney under a 50 Hz ac current. *Phys. Med. Biol* 53 (2008) 1701-1713.

80 Ivorra A, Gómez R, Noguera N, Villa R, Sola A, Palacios L, Hotter G, Aguiló J. Minimally invasive silicon probe for electrical impedance measurements in small animals. *Biosensors and Bioelectronics*, Volume 19, Issue 4, 15 December 2003, Pages 391-399

81 Haemmerich D, Staelin S T, Tsai J Z, Tungjitkusolmun S, Mahvi DM and Webster J G. In vivo electrical conductivity of hepatic tumours. *Physiol. Meas.* 24 (2003) 251–260.

82 Ahmad Keshtkar. Design and construlction of small sized pencil probe to measure bio-impedance. *Medical Engineering & Physics* 29 (2007) 1043-1048.

83 Gonzales-Correa CA. Endoscopic measurement of electrical impedance spectra and their dependence on tissue properties in Barrett's oesophagus. Sheffield: Department of Medical Physics and Clinical Engineering Sheffield University; 2000.

84 Brown BH, Tidy JA, et al. Relation between tissue structure and imposed electrical current flow in cervical neoplasia. *Lancet* 2000; 355 (9207): 892-5.

85 Gonzalez-Correa CA, Brown BH, Smallwood RH, Stephenson TJ, Stoddard CJ and Bardhan KD. Low frequency electrical bioimpedance for the detection of inflammation and dysplasia in Barrett's oesophagus 2003 *Physiol. Meas.* 24

86 Modelling of epithelial tissue impedance measured using three different designs of probe. Jones DM, Smallwood RH, Hose DR, Brown BH and Walker DC. *Physiol. Meas.* 24 (2003) 605–623 PII: S0967-3334(03)59687-3

87 Paulson KS, Pidcock MC, and McLeod C. A Probe for Organ Impedance Measurement *IEEE Transactions on biomedical engineering*, NO 10, VOL. 51, OCTOBER 2004

88 de Blas, C., Gasa, J., Mateos, G. G., 2006. Necesidades nutricionales para ganado porcino. Normas FEDNA. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

89 Court FG, Wemyss-Holden SA, Morrison CP, Teague BD, Laws PE, Kew J, Dennison AR, Maddern GJ. Segmental nature of the porcine liver and its potential as a model for experimental partial hepatectomy. *Br J Surg.* 2003 Apr;90(4):440-4.

90 (Machin D, Campbell M, Fayers P, Pinol A. Sample size tables for clinical studies. 2nd ed. Blackwell Science; 1997.